

Université de Sherbrooke

**Implication du récepteur dopaminergique de type 2 et du stress oxydatif dans le traitement de la schizophrénie**

Par  
Jessica Deslauriers  
Département de physiologie et biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé  
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)  
en physiologie

Sherbrooke, Québec, Canada  
Juillet 2010

Jury de Mémoire :

Sylvain Grignon, MD, PhD  
Philippe Sarret, PhD  
Stephen Cunnane, MD  
Guillaume Sébire, MD, PhD

Département de physiologie; Directeur de recherche  
Département de physiologie; Co-directeur de recherche  
Département de physiologie; Membre interne  
Département d'immunologie; Membre externe



Library and Archives  
Canada

Published Heritage  
Branch

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque et  
Archives Canada

Direction du  
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file* *Votre référence*  
ISBN: 978-0-494-79774-7  
*Our file* *Notre référence*  
ISBN: 978-0-494-79774-7

#### NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

#### AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

---

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

■+■  
**Canada**

*The important thing is  
not to stop questioning.  
Curiosity has its own  
reason for existing.*

Albert Einstein

# **Implication du récepteur dopaminergique de type 2 et du stress oxydatif dans le traitement de la schizophrénie**

Par

Jessica Deslauriers

Département de physiologie et de biophysique

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Les antipsychotiques sont des antagonistes du récepteur dopaminergique de type 2 (DRD2) et constituent le principal traitement pharmacologique de la schizophrénie. Le traitement à long-terme par les antipsychotiques peut causer la tolérance au traitement et le développement de la dyskinésie tardive, dont le mécanisme est mal compris et le traitement, insatisfaisant. Il a été démontré que le traitement chronique aux antipsychotiques induit la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif, deux mécanismes associés à la dyskinésie tardive. Le lien entre ces deux phénomènes est mal déterminé. Précédemment, il a été rapporté, dans mon laboratoire d'accueil, que le stress oxydatif, induit par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), augmente le niveau du récepteur DRD2 sur la lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y. L'hypothèse de recherche présentée ici est que le stress oxydatif est impliqué dans la surexpression du récepteur DRD2 induite par les antipsychotiques et que l'administration d'un antioxydant peut atténuer cette surexpression. Le projet présenté rapporte ainsi les effets des antipsychotiques sur les niveaux d'expression du récepteur DRD2 et les effets de l'inhibition du stress oxydatif par le traitement de l'acide lipoïque, un antioxydant, sur la lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y. L'halopéridol, un antipsychotique de première génération, induit une augmentation des niveaux d'expression du récepteur DRD2, alors que l'amisulpride, un antipsychotique de deuxième génération, n'a pas d'effet significatif. De plus, l'halopéridol induit une plus importante augmentation des biomarqueurs du stress oxydatif (carbonylation des protéines, peroxydation lipidique et production de l'anion superoxyde) que l'amisulpride. L'acide lipoïque atténue la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif induit par l'antipsychotique. L'inhibition de la synthèse de catécholamine par l'alpha-méthyl-DL-tyrosine (AMPT) élève l'expression du DRD2 et prévient sa surexpression par les antipsychotiques. Les résultats suggèrent que la surexpression du récepteur DRD2 induite par l'halopéridol est liée au stress oxydatif et proposent des mécanismes potentiels par lesquels l'acide lipoïque peut être considéré comme un agent thérapeutique pour la prévention et le traitement des effets secondaires reliés à l'utilisation des antipsychotiques.

## **Mots-clés**

dopamine, SH-SY5Y, schizophrénie, halopéridol, amisulpride, stress oxydatif, acide lipoïque



# **Involvement of dopamine D2 receptor and oxidative stress in schizophrenia treatment**

By

Jessica Deslauriers

Department of physiology and biophysics

Work presented to the Faculty of medicine and health sciences for graduation of master ès sciences (M.Sc.) in physiology, Faculty of medicine and health sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Most antipsychotic drugs are dopamine D2 receptor (DRD2) antagonists and remain the main pharmacological treatment of schizophrenia. Long-term antipsychotic use can give rise to treatment tolerance and tardive dyskinesia, whose mechanism is not well understood and the treatment, unsatisfactory. It has been reported that chronic treatment with antipsychotics induces DRD2 receptor up-regulation and oxidative stress, which have been associated with tardive dyskinesia. The link between these two phenomena is not well determined. Previously, in my lab group, it has been reported that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress increased DRD2 receptor expression in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. The research hypothesis, presented here, is that oxidative stress is involved in the antipsychotics-induced DRD2 receptor upregulation and that antioxidant treatment can attenuate this DRD2 receptor upregulation. We report here the effects of antipsychotic drugs on DRD2 expression levels, in human SH-SY5Y neuroblastoma cells, and the effects of the inhibition of oxidative phenomena by (±)-α-Lipoic acid treatment. Haloperidol, a first-generation antipsychotic, induced an increase in DRD2 receptor levels, while amisulpride, a second-generation antipsychotic, had no significant effect. (±)-α-Lipoic acid pre-treatment reversed the haloperidol-induced DRD2 up-regulation. Furthermore, haloperidol induced a larger increase of oxidative stress biomarkers (protein carbonylation, lipid peroxidation and superoxide anion production) than amisulpride. (±)-α-Lipoic acid also attenuated antipsychotic-induced oxidative stress. Inhibition of catecholamine synthesis by alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT) increased DRD2 expression and prevented further increase by antipsychotics. The results suggest that haloperidol-induced DRD2 up-regulation is linked to oxidative stress and provide potential mechanisms by which (±)-α-Lipoic acid can be considered as a therapeutic agent to prevent and treat side effects related to the use of first-generation antipsychotics.

## **Key words**

dopamine, SH-SY5Y, schizophrenia, haloperidol, amisulpride, oxidative stress, lipoic acid

## Table des matières

Liste des tableaux .....	ix
Liste des figures .....	x
Liste des abréviations .....	xi
1. Introduction .....	14
1.1. La schizophrénie .....	14
1.1.1. Le diagnostic et la symptomatologie de la schizophrénie .....	14
1.2. Le système dopaminergique .....	15
1.2.1. La dopamine .....	15
1.2.2. La synthèse la dopamine .....	15
1.2.3. Le métabolisme de la dopamine .....	16
1.2.4. Les récepteurs dopaminergiques .....	17
1.2.4.1. Les récepteurs dopaminergiques de la classe D1 .....	17
1.2.4.2. Les récepteurs dopaminergiques de la classe D2 .....	18
1.2.5. Le système dopaminergique dans le système nerveux central (SNC) .....	18
1.2.5.1. La neuroanatomie .....	18
1.2.5.2. Les récepteurs DRD1 dans le SNC .....	19
1.2.5.3. Les récepteurs DRD2 dans le SNC .....	20
1.2.5.3.1. Les formes des récepteurs DRD2 .....	21
1.2.6. L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie .....	22
1.2.6.1. L'activité dopaminergique au niveau pré-synaptique .....	22
1.2.6.2. L'activité dopaminergique au niveau post-synaptique .....	22
1.2.6.3. Le traitement aux antipsychotiques .....	23
1.2.6.4. La proportion des récepteurs DRD2 à l'état D2 <sup>HIGH</sup> .....	23
1.3. Le traitement de la schizophrénie .....	24
1.3.1. L'antagonisme des récepteurs DRD1 .....	24
1.3.2. L'antagonisme des récepteurs DRD2 .....	25

1.3.2.1. Les antipsychotiques de première génération .....	26
1.3.2.2. Les antipsychotiques de deuxième génération .....	27
1.3.3. La perte d'efficacité du traitement antipsychotique .....	27
1.3.4. Les effets extrapyramidaux et secondaires au traitement antipsychotique .....	27
1.3.4.1. La dyskinésie tardive .....	29
1.3.4.2. La différence d'incidence entre les deux classes d'antipsychotiques .....	29
1.3.4.2.1. Les antipsychotiques de première génération .....	29
1.3.4.2.2. Les antipsychotiques de deuxième génération .....	29
1.3.4.2.2.1. L'affinité pour le récepteur DRD2 .....	30
1.3.4.2.2.2. L'activité anticholinergique .....	30
1.3.4.2.2.3. L'antagonisme du récepteur sérotonergique .....	30
1.3.4.2.2.4. L'amisulpride .....	31
1.3.4.2.2.5. Les autres effets secondaires .....	31
1.4. Le stress oxydatif .....	32
1.4.1. La description du stress oxydatif .....	32
1.4.2. Le mécanisme du stress oxydatif .....	33
1.4.2.1. Les molécules pro-oxydantes .....	33
1.4.2.2. La défense antioxydante .....	34
1.4.2.2.1. La défense antioxydante enzymatique .....	34
1.4.2.2.2. La défense antioxydante non-enzymatique .....	35
1.4.3. Le lien entre la dopamine et le stress oxydatif .....	36
1.4.4. Les marqueurs de stress oxydatif .....	37
1.4.5. La vulnérabilité du cerveau au stress oxydatif .....	38
1.4.6. L'implication du stress oxydatif dans la schizophrénie .....	39
1.4.7. L'implication du stress oxydatif dans la dyskinésie tardive .....	40
1.4.7.1. Les variations de stress oxydatif entre les classes d'antipsychotiques .....	40
1.4.7.1.1. Mécanismes d'induction de stress oxydatif par l'halopéridol ..	41
1.4.7.1.1.1. L'augmentation du métabolisme de la dopamine .....	41
1.4.7.1.1.2. La métabolisation de l'halopéridol en ion pyridinium ....	42
1.5. Les mécanismes reliant la régulation du récepteur DRD2 et le stress oxydatif dans le développement de la dyskinésie tardive .....	43
1.5.1. La régulation du récepteur DRD2 par le stress oxydatif .....	44

1.6. Les objectifs du projet .....	44
2. Avant-propos de l'article .....	46
3. Résumé de l'article .....	47
4. Article .....	48
5. Discussion .....	76
5.1. Le modèle in vitro à l'étude .....	76
5.1.1. Le choix du modèle cellulaire .....	76
5.1.2. Le choix des molécules antipsychotiques .....	76
5.1.3. Le choix de l'antioxydant .....	76
5.1.3.1. La vitamine E .....	77
5.1.3.2. La N-acétylcystéine .....	78
5.1.3.3. L'acide lipoïque .....	78
5.1.3.3.1. Les propriétés antioxydantes de l'acide lipoïque .....	79
5.1.3.3.2. Les effets bénéfiques connus de l'acide lipoïque .....	79
5.2. L'étude comparative des antipsychotiques sur l'expression du récepteur DRD2 .....	80
5.2.1. Le couplage à la protéine G .....	81
5.2.2. Le récepteur sigma, un autre site de liaison de l'halopéridol .....	81
5.2.3. L'influence des catécholamines sur l'expression du récepteur DRD2 .....	82
5.2.4. L'influence des niveaux de dopamine sur l'action des antipsychotiques ...	82
5.3. L'étude de l'effet de l'acide lipoïque sur l'action des antipsychotiques .....	83
5.3.1. Le mécanisme d'action de l'acide lipoïque dans le modèle <i>in vitro</i> .....	83
5.4. L'évaluation des biomarqueurs de stress oxydatif .....	84
5.4.1. Le métabolisme de l'acide arachidonique .....	85
5.5. Le potentiel thérapeutique de l'acide lipoïque .....	85
5.6. L'utilisation du modèle in vitro de neuroblastomes humains SH-SY5Y .....	86
5.6.1. Les avantages .....	86
5.6.2. Les limites .....	86
5.7. L'implication d'autres systèmes de neurotransmetteurs .....	87

5.7.1. Le système glutamatergique .....	87
5.7.1.1. Le système glutamatergique dans la schizophrénie .....	87
5.7.1.2. Le système glutamatergique dans la dyskinésie tardive .....	88
5.7.2. Le système GABAergique .....	88
5.7.3. L'étude des systèmes non-dopaminergiques .....	89
6. Conclusion et perspectives .....	90
6.1. Conclusion .....	90
6.2. Perspectives .....	90
6.2.1. Les mécanismes de transduction .....	90
6.2.1.1. Les facteurs impliqués dans le stress oxydatif .....	91
6.2.1.1.1. Le facteur de transcription NFκB .....	91
6.2.1.1.2. Les facteurs de transcription Sp1 et AP-1 .....	92
6.2.1.1.3. Le facteur de transcription DRRF .....	92
6.2.1.1.4. Les cascades de signalisation JNK et p38 .....	93
6.2.1.2. La cascade de signalisation Akt/ GSK3β .....	94
6.2.1.2.1. La cascade AMPc-dépendante .....	95
6.2.1.2.2. La cascade AMPc-indépendante .....	95
6.2.1.2.3. La cascade Akt/GSK3β dans la schizophrénie .....	96
6.2.2. L'implication des cytokines dans la schizophrénie .....	97
6.2.2.1. L'étude des cytokines dans le modèle cellulaire .....	98
6.2.3. Étude dans un modèle <i>in vivo</i> .....	98
6.2.3.1. Le modèle <i>in vivo</i> de schizophrénie .....	99
7. Remerciements .....	100
8. Liste des publications .....	102
9. Annexes .....	126
9.1. Publications et communications découlant du projet .....	126

## Liste des tableaux

- Tableau 1 : Liste des antipsychotiques (APs) disponibles au Canada, des doses moyennes quotidiennes et de leurs effets thérapeutiques et secondaires
- Tableau 2 : Les radicaux libres récupérés (+) par l'acide lipoïque et le dihydrolipoate

## Liste des figures

- Figure 1 : La synthèse de la dopamine.
- Figure 2 : Le métabolisme de la dopamine.
- Figure 3 : Les voies dopaminergiques du système nerveux central.
- Figure 4 : L'organisation des synapses dopaminergiques au niveau du striatum et du nucleus accumbens.
- Figure 5 : Schéma de la « coopérativité négative » entre les récepteurs DRD2.
- Figure 6 : L'hypersensibilité dopaminergique dans le schéma de « coopérativité négative » entre les récepteurs DRD2.
- Figure 7 : L'importance de l'homéostasie oxydative.
- Figure 8 : La production mitochondriale des espèces réactives de l'oxygène.
- Figure 9 : La production des radicaux libres et le mécanisme de défense contre le dommage induit par les radicaux libres.
- Figure 10 : L'auto-oxydation et la déamination oxydative de la dopamine.
- Figure 11 : Les mécanismes d'induction du stress oxydatif par l'halopéridol.
- Figure 12 : L'implication de la régulation de récepteur DRD2 et du stress oxydatif dans la dyskinésie tardive.
- Figure 13 : Schéma récapitulatif du projet de recherche
- Figure 14 : Le mécanisme d'activation de NFκB
- Figure 15 : L'activation des kinases JNK (de l'anglais *c-Jun N-terminal Kinase*) et p38.
- Figure 16 : Les phases de réponse suite à l'activation du RCPG (récepteur couplé à la protéine G).
- Figure 17 : Les cascades de signalisation du RCPG (récepteur couplé à la protéine G)

## Liste des abréviations

12-LOX	12-Lipoxygénase
1M2P	1-méthyl-2-phénylindole
3-MT	3-méthoxytyramine
5-HT	5-hydroxytryptamine/sérotonine
5-LOX	5-Lipoxygénase
8-OhdG	8-hydroxy-2'-déoxyguanosine
AA	Acide arachidonique
AC	Adénylyl cyclase
ADHD	de l'anglais <i>Attention Deficit and Hyperactivity Disorder</i>
AIMS	de l'anglais <i>Abnormal Involuntary Movements Scale</i>
ALD-D	Aldéhyde déhydrogénase
AMPC	Adénosine monophosphate cyclique
AMPT	Alpha-méthyl-para-tyrosine
AP	Antipsychotique
AP-1	de l'anglais <i>Activator Protein 1</i>
APG	Antipsychotique de première génération
ASG	Antipsychotique de deuxième génération
ASK1	de l'anglais <i>Apoptosis Signal-regulating Kinase</i>
ATV	Aire tegmentaire ventrale
BH <sub>2</sub>	Bihydrobioptérine
BH <sub>4</sub>	Tétrahydrobioptérine
BHPR	de l'anglais <i>Bunney-Hamburg Psychosis Rating</i>
BPRS	de l'anglais <i>Brief Psychiatric Rating Scale</i>
BRSDIA	de l'anglais <i>Barnes Rating Scale for Drug-Induced Akathisia</i>
CAR	de l'anglais <i>conditioned avoidance responding</i>
CAT	Catalase
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
COMT	Catéchol-O-méthyltransférase
COX	Cycloxygénase
DA	Dopamine
DARPP32	de l'anglais <i>dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein with molecular weight 32</i>
DAT	Transporteur de la dopamine
DHE	Dihydroéthidium
DHLA	Dihydrolipoate
DNPH	2,4-dinitrophénylhydrazine
DOPAC	Acide dihydrophénylacétique
DRD1	Récepteur dopaminergique de type 1
DRD2	Récepteur dopaminergique de type 2
DRD3	Récepteur dopaminergique de type 3
DRD4	Récepteur dopaminergique de type 4
DRD5	Récepteur dopaminergique de type 5



DRRF	de l'anglais <i>dopamine receptor regulating factor</i>
Dyn	Dynorphine
ERK	de l'anglais <i>Extracellular-signal Regulated protein Kinase</i>
ESRS	de l'anglais <i>Extrapyrarnidal Symptom Rating Scale</i>
GABA	acide $\gamma$ -aminobutyrique
GAD	de l'anglais <i>glutamic acid decarboxylase</i>
$\gamma$ -GCL	$\gamma$ -glutamyl cystéine ligase
GR	Glutathion Réductase
GSH	Glutathion (forme réduite)
GSH-Px	Glutathion Peroxydase
GSK3 $\beta$	de l'anglais <i>Glycogen Synthase Kinase 3<math>\beta</math></i>
GSSG	Forme oxydée du glutathion
H <sub>2</sub> O	Eau
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxyde d'hydrogène
HAEs	Hydroxyalkénals
HP <sup>+</sup>	Ion pyridinium
HVA	Acide homovanillique
IFN- $\gamma$	Interféron- $\gamma$
IL-1 $\beta$	Interleukine-1 $\beta$
IL-2	Interleukine-2
IL-6	Interleukine-6
I $\kappa$ B	de l'anglais <i>I-kappa-B</i>
IKK	de l'anglais <i>I<math>\kappa</math>B kinase</i>
IPP	Inhibition par prépulse sonore du réflexe de sursaut auditif
JNK	de l'anglais <i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
KLF16	de l'anglais Kruppel-like factor 16
LAD	dihydrolipoamide
LCS	Liquide cérébro-spinal
L-DOPA	Dihydroxyphénylalanine
MAO	Monoamine oxydase
MAPK	de l'anglais <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	Malonedialdéhyde
MPP <sup>+</sup>	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridinium
MPTP	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
NAc	Nucleus accumbens
NAC	N-acétylcystéine
NF $\kappa$ B	de l'anglais <i>nuclear factor-kappa B</i>
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NO	Oxyde nitrique
NO <sub>2</sub>	Dioxyde d'azote
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Anion superoxyde
O <sub>2</sub>	Oxygène
OH <sup>-</sup>	Radical hydroxyl
PANSS	de l'anglais <i>Positive and Negative Symptom Scale</i>
PCP	Phencyclidine
PG	Prostaglandine

PI	Phosphatidylinositol
PKA	Protéine kinase A
PLA <sub>2</sub>	Phospholipase A <sub>2</sub>
Poly I:C	Acide polyinosinique:polycytidilique
PPA	Propréénképhaline
PrSH	groupes thiols
PTX	de l'anglais <i>pertussis toxin</i>
PUFAs	Acides gras polyinsaturés
RNS	de l'anglais <i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	de l'anglais <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPCG	Récepteur couplé à la protéine G
SAM	S-adenosyl-L-méthionine
SAPS	de l'anglais <i>Simplified Acute Physiology Score</i>
SANS	de l'anglais <i>Scale for the Assessment of Negative Symptoms</i>
SARS	de l'anglais <i>Simpson-Angus Rating Scale</i>
SDSS	de l'anglais <i>Subjective Deficit Syndrome Scale</i>
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SN	Substance noire
SNC	Système nerveux central
SOD	Superoxyde dismutase
SP	Substance P
Sp1	de l'anglais <i>Specificity Protein 1</i>
Sp3	de l'anglais <i>Specificity Protein 3</i>
SPECT	de l'anglais <i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
TAS	de l'anglais <i>total antioxidant status</i>
TBARS	de l'anglais <i>thiobarbituric acid reactive species</i>
TEP	Tomographie par émission de positrons
TH	Tyrosine hydroxylase
TNF- $\alpha$	de l'anglais <i>tumor necrosis factor alpha</i>
TRAP	de l'anglais <i>total reactive antioxidant potential</i>
Trx	Thiorédoxine
VAT	Transporteur vésiculaire
VCMs	de l'anglais <i>vacuous chewing movements</i>
XO	Xanthine oxydase

## 1. Introduction

### 1.1. La schizophrénie

La schizophrénie est un trouble neuropsychiatrique affectant 1% de la population (Seeman et Kapur, 2000) et engendrant des coûts annuels considérables. En 2005, au Canada, plus de 200 000 Canadiens étaient atteints de schizophrénie, imposant pas moins de 6,85 milliards de dollars canadiens au gouvernement (Goeree *et al.*, 2005). Il s'agit d'une maladie mentale chronique et neurodégénérative, qui apparaît généralement à la fin de l'adolescence ou au début de l'âge adulte et qui est caractérisée par des épisodes alternatifs d'exacerbation de la maladie et de rémission partielle (Bromet et Fennig, 1999). Plusieurs types de schizophrénie existent : paranoïde, désorganisé, catatonique, indifférencié et résiduel (McGlashan et Fenton, 1991).

#### 1.1.1. Le diagnostic et la symptomatologie de la schizophrénie

Un diagnostic confirmé de schizophrénie nécessite une symptomatologie pendant six mois. Il y a trois types de symptômes : positifs, négatifs et cognitifs (Andreasen et Olsen, 1982). Les symptômes positifs, qui sont des perturbations qui s'ajoutent aux fonctions retrouvées chez un individu normal, sont caractérisés par des idées délirantes, des hallucinations, la désorganisation de la pensée et la paranoïa. Le manque de motivation et de volonté, l'alogie (pauvreté du discours), l'émoussement affectif (diminution du langage corporel et des contacts oculaires) et le retrait social constituent des symptômes négatifs, qui sont des déficits de fonctions retrouvées chez un individu normal, alors que les symptômes cognitifs sont caractérisés par la perte d'attention et de la mémoire (Flaum et Andreasen, 1991). Plusieurs échelles existent pour mesurer la sévérité des symptômes et de la psychopathologie de la schizophrénie : le *PANSS* (de l'anglais *Positive and Negative Symptom Scale*) (Kay *et al.*, 1987), le *BPRS* (de l'anglais *Brief Psychiatric Rating Scale*), le

*SANS* (de l'anglais *Scale for the Assessment of Negative Symptoms*) (Andreasen, 1989), le *BHPR* (de l'anglais *Bunney-Hamburg Psychosis Rating*), le *SDSS* (de l'anglais *Subjective Deficit Syndrome Scale*) (Jaeger *et al.*, 1990) et le *SAPS* (de l'anglais *Simplified Acute Physiology Score*) (Le Gall *et al.*, 1993).

## 1.2. Le système dopaminergique

Plusieurs systèmes de neurotransmission contribuent à la psychopathologie de la schizophrénie. Cette maladie est, entre autres, causée par une altération du système dopaminergique du système nerveux central (SNC) (Civelli *et al.*, 1993), qui est aussi associée à plusieurs autres conditions neuropathologiques, comme la maladie du Parkinson, le syndrome de la Tourette, l'hyperprolactinémie (Missale *et al.*, 1998), le trouble du déficit de l'attention/hyperactivité (*ADHD*, de l'anglais *Attention Deficit and Hyperactivity Disorder*), la dépendance à la drogue et la dépression (Bozzi et Borrelli, 2006; Mohn *et al.*, 2004).

### 1.2.1. La dopamine

La dopamine (DA) est un neurotransmetteur majeur du SNC. Son rôle au niveau du cerveau se caractérise par le contrôle de plusieurs fonctions telles que l'activité locomotrice, la cognition, l'émotion, le réenforcement positif, la nutrition et la régulation endocrine. La DA joue aussi un rôle en périphérie où elle module la fonction cardiovasculaire, la libération de catécholamine, la sécrétion hormonale, le volume vasculaire, la fonction rénale (homéostasie sodique) et la motilité intestinale (Missale *et al.*, 1998).

### 1.2.2. La synthèse de la dopamine

Dès son entrée dans le neurone dopaminergique, la tyrosine, un acide aminé, est converti en dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) via l'action de l'enzyme cytosolique tyrosine hydroxylase (TH) (E.C.1.14.16.2.). Cette conversion, qui est l'étape limitante de la synthèse de la DA, nécessite la conversion d'oxygène (O<sub>2</sub>) et de tétrahydrobioptérine (BH<sub>4</sub>)

en eau ( $H_2O$ ) et en dihydrobioptérine ( $BH_2$ ). La conversion cytosolique de L-DOPA en DA est effectuée via l'action de l'enzyme DOPA décarboxylase (E.C.4.1.1.28.), avec la libération de dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) (Elsworth et Roth, 1997) (voir la figure 1).

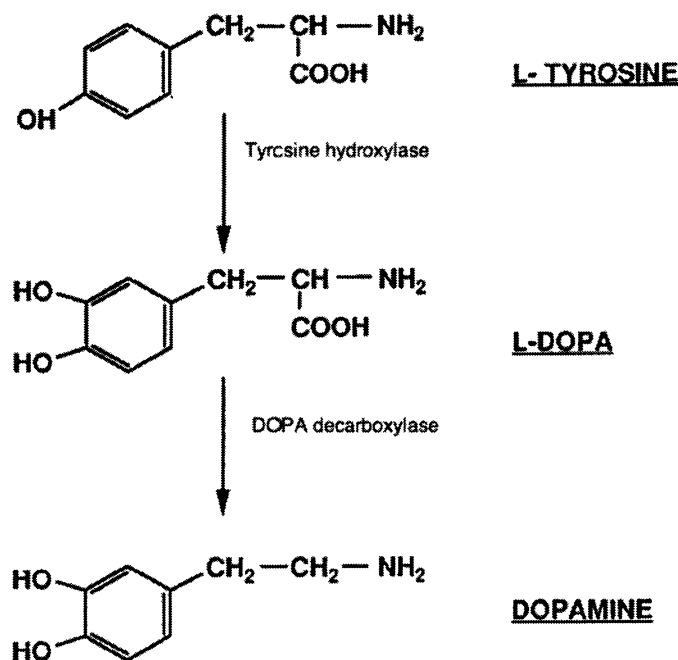


Figure 1. La synthèse de la dopamine. L'enzyme tyrosine hydroxylase convertit la tyrosine en dihydroxyphénylalanine (L-DOPA), qui est à son tour convertie en dopamine via l'action de l'enzyme DOPA décarboxylase (Elsworth et Roth, 1997).

### 1.2.3. Le métabolisme de la dopamine

Les enzymes monoamine oxydase (MAO) (E.C.1.4.3.4.) et catéchol-*O*-méthyltransférase (COMT) (E.C.2.1.1.6.) convertissent la DA en acide dihydrophénylacétique (DOPAC) et en 3-méthoxytyramine (3-MT) respectivement. La DOPAC et la 3-MT sont ensuite convertis en acide homovanillique (HVA, de l'anglais *homovanillic acid*) via l'action des enzymes COMT et MAO respectivement (Elsworth et Roth, 1997) (voir la figure 2).

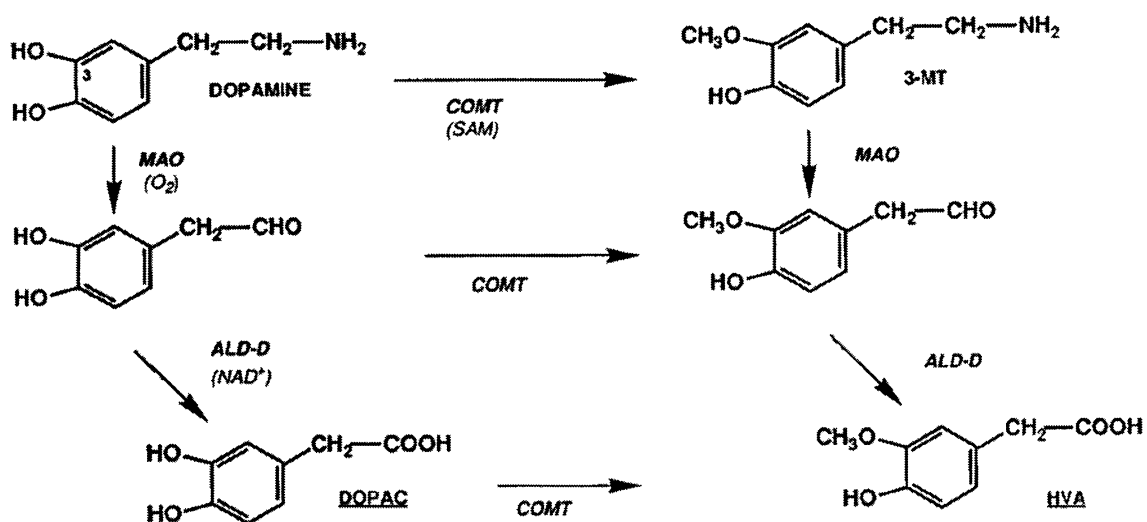


Figure 2. Le métabolisme de la dopamine. Les enzymes monoamine oxydase (MAO), catéchol-*O*-transférase (COMT) et aldéhyde déhydrogénase (ALD-D) sont responsables du métabolisme de la dopamine et de la formation de l'acide dihydrophénylacétique (DOPAC), de la 3-méthoxytyramine (3-MT) et de l'acide homovanillique (HVA). Les cofacteurs des enzymes sont entre parenthèses (SAM; *S*-adénosyl-*L*-méthionine) (modifié de Elsworth et Roth, 1997).

#### 1.2.4. Les récepteurs dopaminergiques

Les récepteurs dopaminergiques sont associés à plusieurs désordres neurodégénératifs, comme la maladie du Parkinson et la schizophrénie. Les diverses actions physiologiques de la DA sont médiées par cinq sous-types de récepteurs couplés à la protéine G (RCPG ou *GPCR*, de l'anglais *G protein coupled receptor*), une famille de récepteurs contenant sept domaines transmembranaires. Les récepteurs dopaminergiques sont divisés en deux classes : les récepteurs dopaminergiques de la classe D1 et de la classe D2.

##### 1.2.4.1. Les récepteurs dopaminergiques de la classe D1

La classe de récepteurs D1 regroupe les récepteurs dopaminergiques de type 1 (DRD1) et de type 5 (DRD5), qui lient la protéine G<sub>s</sub> (Kebabian et Calne, 1979). Les récepteurs de la classe D1 stimulent la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et l'activité de la protéine kinase A (PKA), via l'activation de l'adénylyl cyclase (AC), et augmentent le courant des canaux calciques (Missale *et al.*, 1998). Ils induisent une

augmentation du taux de calcium intracellulaire via la stimulation de l'hydrolyse du phosphatidylinositol (PI).

#### 1.2.4.2. Les récepteurs dopaminergiques de la classe D2

La classe de récepteurs D2 regroupe les récepteurs dopaminergiques de type 2 (DRD2), de type 3 (DRD3) et de type 4 (DRD4). Ces récepteurs ont une action opposée à la classe de récepteurs D1 : ils lient la protéine  $G_{i/o}$  (Kebabian et Calne, 1979), régulent négativement la production d'AMPC et l'activité de la PKA, via l'inhibition de l'AC, et activent les canaux potassiques  $K^+$  (Missale *et al.*, 1998). Aussi, ils diminuent le taux de calcium intracellulaire via la réduction du courant des canaux calciques entrants (de type L).

#### 1.2.5. Le système dopaminergique dans le système nerveux central

##### 1.2.5.1. La neuroanatomie

Les neurones dopaminergiques se situent principalement au niveau de l'hypothalamus, de la substance noire (SN) et de l'aire tegmentaire ventrale (ATV ou *VTA*, de l'anglais *ventral tegmental area*). Quatre voies dopaminergiques sont à l'origine de ces neurones : la voie nigrostriatale, la voie tubéro-infundibulaire, la voie mésolimbique et la voie mésocorticale (Bozzi et Borrelli, 2006) (voir la figure 3). La voie nigrostriatale est caractérisée par la projection des neurones de la SN au striatum. Cette voie est impliquée dans le contrôle de la locomotion et dans les effets extrapyramidaux/secondaires des antipsychotiques (APs) (voir la section 1.3.4.). Les neurones originaires de l'ATV et projetant vers le *nucleus accumbens* (NAc) et les aires limbiques constituent la voie mésolimbique, alors que les neurones projetant vers le cortex préfrontal constituent la voie mésocorticale. Une hyperactivité de la voie mésolimbique serait associée aux symptômes positifs de la schizophrénie (Abi-Dargham *et al.*, 2000), alors qu'un déficit de la voie mésocorticale est responsable des symptômes négatifs de la maladie. La voie tubéro-infundibulaire est composée des neurones partant de l'hypothalamus et innervant l'hypophyse, où les récepteurs DRD2 exercent un effet inhibiteur sur la synthèse de la libération de DA. Cette

dernière voie est associée à l'hyperprolactinémie observée avec le traitement aux APs (Jaber *et al.*, 1996).

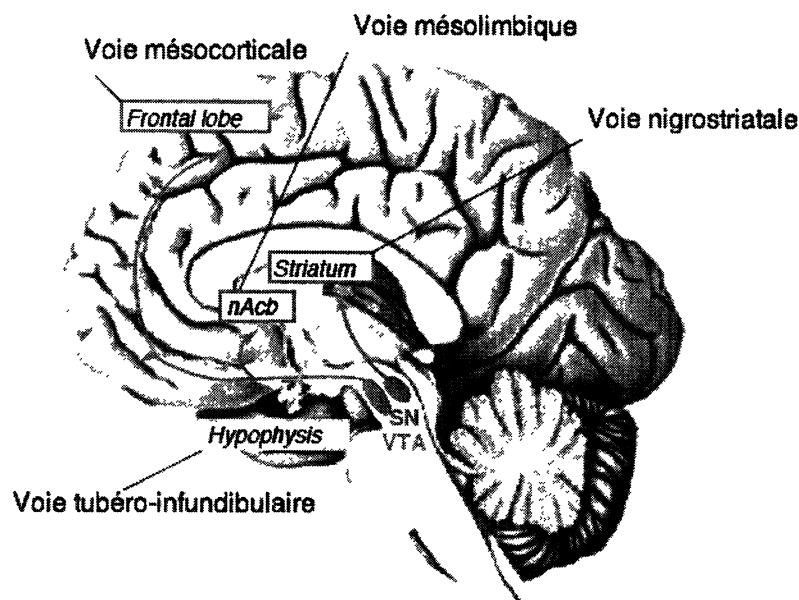


Figure 3. Les voies dopaminergiques du système nerveux central. Quatre voies constituent le système dopaminergique du système nerveux central : les voies nigrostriatale, mésolimbique, mésocorticale et tubéro-infundibulaire (nAcb; nucleus accumbens, SN; substance noire, VTA; aire tegmentaire ventrale) (modifié de Bozzi et Borelli, 2006).

#### 1.2.5.2. Les récepteurs DRD1 dans le SNC

Les récepteurs DRD1 sont les plus abondants des récepteurs dopaminergiques (Freneau *et al.*, 1991; Weiner *et al.*, 1991). On les retrouve au niveau du striatum, du NAc, du tubercule olfactif, du système limbique, de l'hypothalamus et du thalamus. Au niveau du striatum et du NAc, les récepteurs DRD1 sont principalement localisés, au niveau post-synaptique, sur les neurones GABAergiques coexprimant la substance P et la dynorphine (Gerfen *et al.*, 1990) (voir la figure 4).



### 1.2.5.3. Les récepteurs DRD2 dans le SNC

Les récepteurs DRD2 se retrouvent principalement au niveau du striatum, du tubercule olfactif et du NAc (Bouthenet *et al.*, 1991), où ils sont localisés, au niveau post-synaptique, sur les neurones GABAergiques coexprimant les enképhalines (Le Moine *et al.*, 1990) (voir la figure 4). De plus, dans le NAc, les récepteurs DRD2 sont également exprimés sur les neurones GABAergiques contenant la neurotensine. On retrouve aussi les récepteurs DRD2 au niveau de l'hypothalamus, de la SN et de l'ATV, où ils sont localisés sur les neurones dopaminergiques (Bouthenet *et al.*, 1991; Meador-Woodruff *et al.*, 1989; Weiner *et al.*, 1991). Au niveau pré-synaptique, les neurones dopaminergiques contiennent les autorécepteurs de type 2 (voir la figure 4).

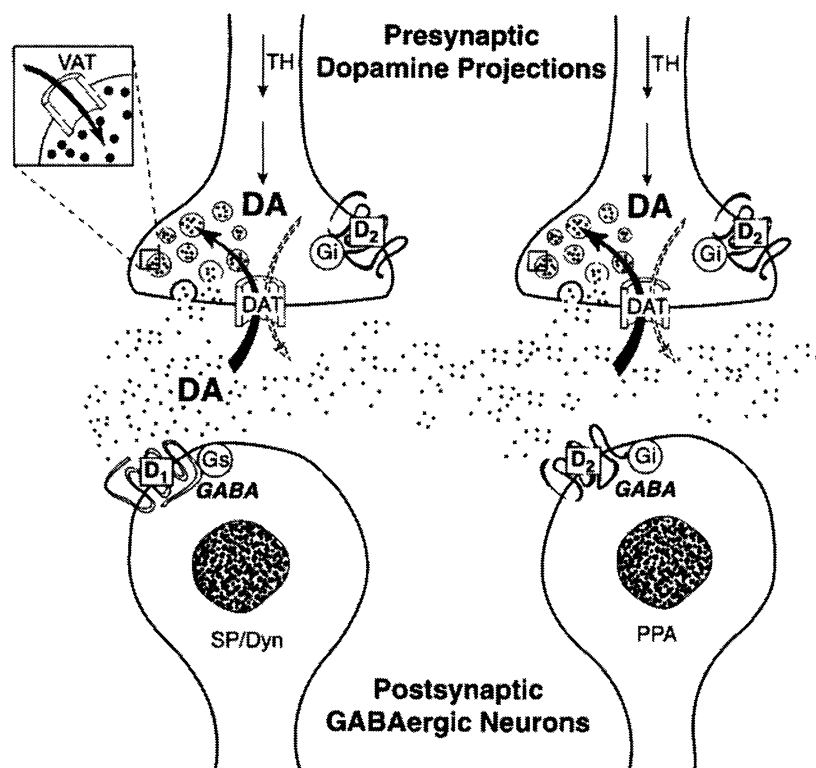


Figure 4. L'organisation des synapses dopaminergiques au niveau du striatum et du nucleus accumbens. Les récepteurs DRD1 sont localisés sur les neurones GABAergiques coexprimant la substance P (SP) et la dynorphine (Dyn), alors que les récepteurs DRD2 se retrouvent sur les neurones GABAergiques contenant l'enképhaline. Les terminaisons dopaminergiques pré-synaptiques contiennent les autorécepteurs de type 2. (PPA, proenkephaline; DAT, transporteur de la dopamine; VAT, transporteur vésiculaire; TH, tyrosine hydroxylase) (Missale *et al.*, 1998)

### 1.2.5.3.1. Les formes des récepteurs dopaminergiques de type 2 (DRD2)

Il existe deux isoformes du récepteur DRD2 :  $D2^{\text{Short}}$  (D2S) et  $D2^{\text{Long}}$  (D2L) (Monsma *et al.*, 1989). Les récepteurs D2S sont exprimés surtout au niveau pré-synaptique (sous le nom d'autorécepteurs), alors que les récepteurs D2L sont situés au niveau post-synaptique (Usiello *et al.*, 2000). L'isoforme dont on fait référence ici est principalement D2L.

Les récepteurs DRD2 existent sous deux états : les états  $D2^{\text{LOW}}$  et  $D2^{\text{HIGH}}$ . L'état  $D2^{\text{LOW}}$  correspond à l'état du récepteur qui a une faible affinité pour la DA, alors que l'état  $D2^{\text{HIGH}}$  correspond à l'état du récepteur qui a une haute affinité pour la DA et est la forme fonctionnelle du récepteur DRD2 (George *et al.*, 1985; McDonald *et al.*, 1984). Un agoniste lie le récepteur à l'état  $D2^{\text{HIGH}}$  à de faibles concentrations (nanomoles) et l'état  $D2^{\text{LOW}}$  à de fortes doses (micromoles). Il y a deux opinions sur l'existence de l'état fonctionnel  $D2^{\text{HIGH}}$  du récepteur. La première opinion explique que l'état  $D2^{\text{HIGH}}$  existe quand le récepteur est lié à la protéine G et l'agoniste lie le récepteur, formant un complexe ternaire (De Lean *et al.*, 1980). L'état  $D2^{\text{LOW}}$  n'existe que quand la protéine G n'est pas associée au récepteur. La deuxième vision est basée sur le modèle de « coopérativité négative » (Chidiac *et al.*, 1997; Sum *et al.*, 2001). Selon ce modèle, le récepteur coopère avec d'autres récepteurs pour former un dimère, tétramère ou oligomère. Lorsqu'un agoniste lie le récepteur, celui-ci devient à un état  $D2^{\text{HIGH}}$  et interagit avec les autres récepteurs pour réduire leur affinité à l'état  $D2^{\text{LOW}}$ . Cette interaction est le résultat d'une « coopérativité négative » (voir la figure 5).

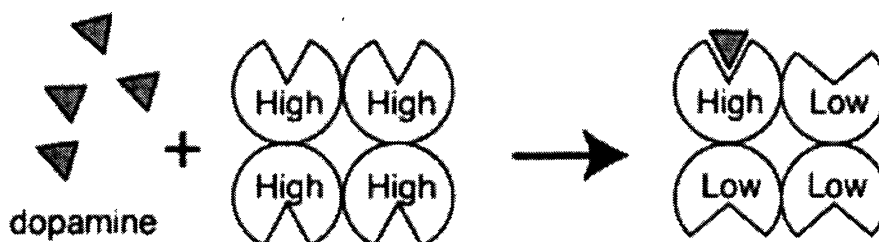


Figure 5. Schéma de la « coopérativité négative » entre les récepteurs DRD2. Le récepteur coopère avec d'autres récepteurs pour former un dimère, tétramère ou oligomère. Lorsqu'un agoniste lie un récepteur, celui-ci devient à un état  $D2^{\text{HIGH}}$  et interagit avec les autres récepteurs pour réduire leur affinité à l'état  $D2^{\text{LOW}}$  (modifié de Seeman *et al.*, 2006).

### 1.2.6. L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie

Le débalancement du système dopaminergique dans la pathophysiologie de la schizophrénie a été reconnu il y a 45 ans (van Rossum, 1967). L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie stipule que la maladie est due à une activité excessive de la DA au niveau synaptique essentiellement au niveau de la voie mésolimbique (Abi-Dargham *et al.*, 2000), sauf pour la voie mésocorticale (voir la figure 3), où l'on retrouve une hypoactivité dopaminergique, ce qui est en relation avec le fait que la cocaïne et l'amphétamine, des molécules psychostimulantes, augmentent les concentrations synaptiques de DA et améliorent le déficit cognitif chez les schizophrènes (Goldberg *et al.*, 1991).

#### 1.2.6.1. L'activité dopaminergique au niveau pré-synaptique

L'hyperactivité dopaminergique est associée à un excès de la libération de DA au niveau pré-synaptique (Abi-Dargham *et al.*, 2000). L'amphétamine, un inhibiteur de la recapture de la DA, induit des psychoses, semblables aux symptômes positifs de la schizophrénie (hallucinations auditives, euphorie, augmentation de l'activité psychomotrice). Des études en imagerie ont rapporté une augmentation de la libération de DA induite par l'amphétamine chez les schizophrènes (Abi-Dargham *et al.*, 1998; Breier *et al.*, 1997; Laruelle *et al.*, 1996).

#### 1.2.6.2. L'activité dopaminergique au niveau post-synaptique

L'augmentation de la stimulation des récepteurs DRD2 par la DA est associée à l'hyperactivité des neurones dopaminergiques. Il a été démontré que la déplétion de la DA, induite par l'alpha-méthyl-para-tyrosine (AMPT), un inhibiteur de la TH, au niveau intrasynaptique, augmente la disponibilité des récepteurs DRD2 et, par le fait même, améliore la sévérité des symptômes positifs et la réponse au traitement de la schizophrénie (Abi-Dargham *et al.*, 2000). Des études de liaison avec des radioligands sur des cerveaux postmortem (Seeman et Niznik, 1990) et des études utilisant la tomographie par émission de positrons (TEP) (Abi-Dargham *et al.*, 2000) ont démontré une augmentation des niveaux

de récepteurs DRD2 chez les patients atteints de schizophrénie en comparaison avec des individus sains. D'autres études ont rapporté une élévation du niveau de récepteurs DRD2 dans les lymphocytes des patients schizophréniques ou psychotiques (Bondy et Ackenheil, 1987; Soyka *et al.*, 1994).

#### 1.2.6.3. Le traitement aux antipsychotiques

L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie est aussi basée sur le fait que les antipsychotiques (APs) (ou les neuroleptiques), utilisés pour contrôler les symptômes de la maladie, bloquent sélectivement les récepteurs dopaminergiques (voir la section 1.3.) (Matthysse, 1974; Reynolds, 1989; Sigmundson, 1994). De plus, il existe une forte corrélation entre les doses d'APs efficaces cliniquement et leur potentiel à antagoniser la liaison de la DA à ses récepteurs (voir la section 1.3.) (Creese *et al.*, 1976).

#### 1.2.6.4. La proportion des récepteurs dopaminergiques de type 2 (DRD2) à l'état D2<sup>HIGH</sup>

Dans le modèle de « coopérativité négative » (voir la section 1.2.5.3.1.), il peut y avoir une diminution de l'interaction négative entre les récepteurs DRD2, ce qui augmente le nombre de récepteurs à l'état D2<sup>HIGH</sup> et permet à l'agoniste de lier plus de récepteurs. Ce phénomène est un cas d'hypersensibilité dopaminergique (Seeman *et al.*, 2006) (voir la figure 6).

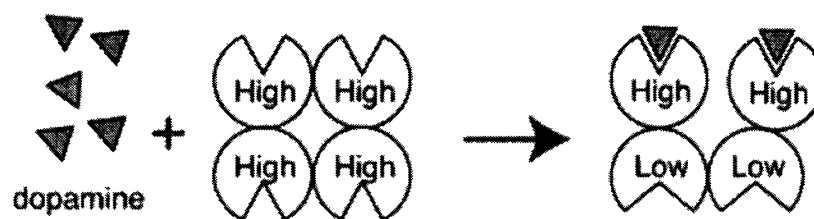


Figure 6. L'hypersensibilité dopaminergique dans le schéma de « coopérativité négative » entre les récepteurs DRD2. Dans le cas d'une hypersensibilité dopaminergique, il y a une diminution de l'interaction négative entre les récepteurs DRD2, ce qui augmente le nombre de récepteurs à l'état D2<sup>HIGH</sup> et permet à l'agoniste de lier plus de récepteurs (modifié de Seeman *et al.*, 2006).

L'hypersensibilité dopaminergique, un biomarqueur commun aux psychoses, dont celles présentes dans la schizophrénie, est associée à une augmentation de la proportion de récepteurs DRD2 à l'état D2<sup>HIGH</sup> (Seeman *et al.*, 2005). En effet, cette étude a rapporté que les patients démontrant une hypersensibilité dopaminergique et une augmentation de l'état D2<sup>HIGH</sup> du récepteur présentent une densité élevée de récepteurs DRD2 dans les tissus striataux postmortem (Seeman, 1987; Seeman *et al.*, 1987) et d'autres études en imagerie ont confirmé ces résultats (Nordstrom *et al.*, 1995; Tune *et al.*, 1993; Wong *et al.*, 1997).

### 1.3. Le traitement de la schizophrénie

Le système dopaminergique, dont l'altération est associée à plusieurs conditions neuropathologiques, constitue la cible primaire du traitement de la schizophrénie, c'est-à-dire les APs, qui agissent principalement via l'antagonisme des récepteurs dopaminergiques dans le but de contrôler les symptômes de la maladie (voir la sections 1.3.2.). Par contre, le traitement chronique aux APs est associé au développement d'effets secondaires comme la dyskinésie tardive (voir la section 1.3.4.), ce qui est lié à une augmentation de la densité des récepteurs dopaminergiques au niveau du striatum.

#### 1.3.1. L'antagonisme des récepteurs dopaminergiques de type 1 (DRD1)

Il a été suggéré que le bloc du récepteur DRD1 préviendrait les symptômes psychotiques (Akiyama *et al.*, 1994; Kuribara, 1995; Pierre et Vezina, 1998) et que cet effet est basé sur l'interaction entre les récepteurs DRD1 et DRD2 (Hersch *et al.*, 1995; Le Moine et Bloch, 1995; Lee *et al.*, 2004; Surmeier *et al.*, 1996). Cependant, il a été démontré que l'usage d'antagonistes du récepteur DRD1 ne soulage pas efficacement les psychoses et les symptômes de la schizophrénie, car les interactions entre les récepteurs DRD1 et DRD2 ne sont pas assez élevées pour initier l'effet antipsychotique. De plus, l'administration d'un antagoniste sélectif au récepteur DRD1 démontre une aggravation des symptômes dans certaines études (Karlsson *et al.*, 1995).

### 1.3.2. L'antagonisme des récepteurs dopaminergiques de type 2 (DRD2)

Les APs décrits comme étant efficaces dans le traitement de la schizophrénie ont, pour la plupart, un profil pharmacologique commun : ils ont une activité antagoniste des récepteurs DRD2 (Creese *et al.*, 1976; Seeman *et al.*, 1975). En fait, le potentiel clinique des APs est directement lié à leur affinité pour le récepteur DRD2 (Seeman *et al.*, 1975; Seeman, 2002). Les doses d'APs occupant 70% des récepteurs DRD2 du cerveau sont associées à la réponse clinique des patients (Seeman, 2005). L'action antipsychotique est principalement associée à l'antagonisme des récepteurs DRD2 extrastriataux (Joyce *et al.*, 1997; Lidow *et al.*, 1998), surtout les récepteurs DRD2 de la voie mésolimbique (Deutch, 1993) (voir la figure 3). Ainsi, le récepteur DRD2 est la cible commune aux deux classes d'APs : les APs de première génération (APGs) et les APs de seconde génération (ASGs) (Miyamoto *et al.*, 2005) (voir le tableau 1 pour un aperçu des APs disponibles au Canada).

<b>APs typiques</b> 1 <sup>ère</sup> génération	<b>Dose moyenne quotidienne</b>	<b>Traitement</b>	<b>Effets secondaires court-terme</b>	<b>Effets secondaires à long-terme</b>
Chlorpromazine (Thorazine)	0,3 g oral	Symptômes positifs	Akathisie Dystonie Parkinsonisme	Dyskinésie tardive
Flufénazine (Depixol)	10 mg oral	Symptômes positifs		
Halopéridol (Haldol)	8 mg oral	Symptômes positifs		
Perphénazine (Trilafon)	30 mg oral	Symptômes positifs Pauvreté du langage		
Pimozide (Orap)	4 mg oral	Symptômes positifs		
Trifluopérazine (Stelazine)	20 mg oral	Symptômes positifs Désorganisation de la pensée Pauvreté du langage		
<b>APs atypiques</b> 2 <sup>e</sup> génération	<b>Dose moyenne quotidienne</b>	<b>Traitement</b>	<b>Effets secondaires court-terme</b>	<b>Effets secondaires à long-terme</b>
Clozapine (Clorazil)	0,3 g oral	Symptômes positifs  Retrait social	-	Gain de poids Risque de diabète Hyperprolacti- némie
Rispéridone (Risperdal)	5 mg oral	Symptômes positifs		
Olanzapine (Zyprexa)	10 mg oral	Symptômes positifs		
Quétiapine (Seroquel)	0,4 g oral	Symptômes positifs		
Amisulpride* (Solian)	0,4 g oral	Symptômes positifs Symptômes négatifs		

Tableau 1. Liste des antipsychotiques (APs) disponibles au Canada, des doses moyennes quotidiennes et de leurs effets thérapeutiques et secondaires. Les noms entre parenthèses correspondent aux noms commerciaux des produits (\* Ce produit n'est pas disponible au Canada).

### 1.3.2.1. Les antipsychotiques de première génération

Les APGs lient fermement le récepteur DRD2, avec une forte affinité, et se dissocient lentement du récepteur, *in vitro* et *in vivo* (Seeman et Tallerico, 1999). Les APGs, comme l'halopéridol, améliorent les symptômes positifs, mais ont une efficacité limitée dans le

traitement des symptômes négatifs et cognitifs (Beuzen *et al.*, 1999; Velligan *et al.*, 2002). Il a été rapporté que l'halopéridol traite la psychose, un symptôme positif, induite par la phencyclidine (PCP) (Giannini *et al.*, 1984).

#### 1.3.2.2. Les antipsychotiques de deuxième génération

Les ASGs sont, pour la plupart, des antagonistes du récepteur DRD2 et du récepteur sérotonergique 5-HT2A (Leysen *et al.*, 1993; Meltzer, 1989). Les ASGs, comme la clozapine, la rispéridone et l'olanzapine, se dissocient rapidement du récepteur DRD2, *in vitro* et *in vivo* (Seeman, 2002; Seeman, 2005), améliorent modérément la performance cognitive (Sharma et Mockler, 1998) et très modérément les symptômes négatifs des schizophrènes, grâce à leur antagonisme du récepteur sérotonergique 5-HT2A dans les aires corticales (Farde *et al.*, 1992), et traitent les symptômes positifs de manière aussi efficace que les APGs (Leucht *et al.*, 2009).

#### 1.3.3. La perte d'efficacité du traitement antipsychotique

Les APs, et notamment les APGs (Kemmler *et al.*, 2005; Leucht *et al.*, 2003), perdent leur efficacité après un traitement chronique. Le retrait de l'AP induit une hypersensibilité dopaminergique comportementale chez les animaux. En fait, l'halopéridol perd de l'efficacité dans la suppression de l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine et dans le test *CAR* (de l'anglais *conditioned avoidance responding*) (Samaha *et al.*, 2007). Cette perte d'efficacité a lieu malgré le haut taux d'occupation des récepteurs DRD2 par l'AP et serait due à une augmentation du potentiel de liaison des récepteurs DRD2 et d'une hypersensibilité du même récepteur, c'est-à-dire une augmentation du nombre de récepteurs DRD2 à l'état D2<sup>HIGH</sup> (Seeman *et al.*, 2005).

#### 1.3.4. Les effets extrapyramidaux et secondaires au traitement antipsychotique

Le traitement aux APs à court-terme (dans les heures ou les jours suivant la prise du médicament) induisent des symptômes extrapyramidaux caractérisés par des désordres du



mouvement (Grohmann *et al.*, 1990), comme le parkinsonisme (Marsden et Jenner, 1980) (caractérisé par des tremblements et l'akinésie (lenteur d'exécution des mouvements accompagnée d'une tendance à l'immobilité)), l'akathisie (besoin impérieux de bouger) et la dystonie (contractions musculaires involontaires). Les effets extrapyramidaux, qui peuvent être mesurés par les échelles *ESRS* (de l'anglais *Extrapyramidal Sympton Rating Scale*), *SARS* (de l'anglais *Simpson-Angus Rating Scale*) (Simpson et Angus, 1970) et *BRSDIA* (de l'anglais *Barnes Rating Scale for Drug-Induced Akathisia*) (Barnes, 1989), sont dus au bloc du récepteur dopaminergique. Spécifiquement, alors que l'effet antipsychotique du traitement est dû à son action sur les récepteurs DRD2 situés principalement au niveau de la voie mésolimbique, les effets extrapyramidaux sont causés par le bloc du récepteur DRD2 au niveau du striatum (voie nigrostriatale) (Deutch *et al.*, 1991; Farde *et al.*, 1992; Meltzer, 1991; Sigmundson, 1994) (voir la figure 3). L'occupation de plus de 80% des récepteurs DRD2 striataux est associée au développement des effets extrapyramidaux (Kapur *et al.*, 2000). En fait, les effets extrapyramidaux seraient associés à une augmentation de l'expression du récepteur DRD2, ce qui amène une hypersensibilité dopaminergique (Seeman *et al.*, 1975; Seeman *et al.*, 1976). En effet, une étude utilisant la technique de tomographie par émission de photon (*SPECT*, de l'anglais *single photon emission computed tomography*) démontre que l'augmentation de la densité du récepteur DRD2 est associée à une forte incidence des effets extrapyramidaux (Schroder *et al.*, 1998). De plus, plusieurs études postmortem (Kornhuber *et al.*, 1989; Mackay *et al.*, 1982; Seeman, 1987) et *in vivo* (Burt *et al.*, 1976; Clow *et al.*, 1980) ont démontré que les APs augmentent la densité du récepteur DRD2. Le traitement prolongé (plusieurs mois) aux APs cause un autre effet secondaire, la dyskinésie tardive (Missale *et al.*, 1998) (voir la section 1.3.4.1.). Dans les études démontrant une élévation de la densité des récepteurs DRD2 dans les tissus striataux postmortem de patients schizophrènes (Seeman, 1992), la majorité des patients étaient traités aux APs, suggérant que les APs eux-mêmes contribuent à l'augmentation de la densité des récepteurs DRD2 et que la surexpression du récepteur DRD2 est associée au développement des effets extrapyramidaux et secondaires, comme la dyskinésie tardive.

#### 1.3.4.1. La dyskinésie tardive

La dyskinésie tardive est un désordre du mouvement qui affecte de 20 à 40% des patients traités chroniquement aux APs (Morgenstern et Glazer, 1993). Ce désordre, qui peut être mesuré par l'échelle *AIMS* (de l'anglais *Abnormal Involuntary Movements Scale*), est caractérisé par des mouvements involontaires de la région orofaciale. D'autres parties du corps, comme le tronc et les extrémités, peuvent être affectées (Andreassen *et al.*, 2003; Jeste *et al.*, 1999; Raja, 1995; Sachdev *et al.*, 1999). Cependant, la caractérisation et la compréhension de cette pathophysiologie demeure obscure (Correll *et al.*, 2004; Paulson, 2005). Malgré l'arrêt de la prise d'AP, la dyskinésie tardive peut persister pendant plusieurs mois, voire des années, et est souvent irréversible (Casey, 1985; Glazer *et al.*, 1990; Jeste *et al.*, 1979). La dyskinésie tardive est associée à une augmentation de la densité des récepteurs DRD2 (Schroder *et al.*, 1998). La dyskinésie tardive est donc associée au développement d'une hypersensibilité du récepteur dopaminergique dans le striatum à la suite d'une administration prolongée des APs (Calabresi *et al.*, 1992).

#### 1.3.4.2. La différence d'incidence entre les deux classes d'antipsychotiques

##### 1.3.4.2.1. Les antipsychotiques de première génération

Les APGs ont une forte incidence d'effets extrapyramidaux/secondaires (Correll *et al.*, 2004). Il a été rapporté que l'halopéridol induisait une augmentation de l'expression du récepteur DRD2 dans les neurones striatales de rat (Bernard *et al.*, 1991). Ainsi, un bloc chronique du récepteur DRD2 *in vivo* induit une hypersensibilité dopaminergique dans le striatum, qui contribue aux dysfonctions motrices (Burt *et al.*, 1976).

##### 1.3.4.2.2. Les antipsychotiques de deuxième génération

Les ASGs ont une incidence moins élevée, mais non nulle (2% par année), d'effets extrapyramidaux/secondaires neurologiques de type dyskinésie tardive, décrits antérieurement, comparativement aux APGs (5% par année) (Correll *et al.*, 2004). Ils ont

aussi une meilleure adhérence et un taux de rechute plus faible (Leucht *et al.*, 2003). Il reste donc pertinent de s'intéresser à la physiopathologie de la dyskinésie tardive. Il apparaît de plus que la dyskinésie tardive et la perte d'efficacité pourraient être des phénomènes corrélés.

#### 1.3.4.2.2.1. L'affinité pour le récepteur DRD2

Les ASGs ont une faible affinité pour le récepteur DRD2. Ainsi, une haute concentration en DA endogène déplace facilement l'ASG du récepteur DRD2. Puisque la concentration d'acide homovanillique se retrouve quatre fois plus élevée dans le striatum que dans les régions limbiques (Anden et Stock, 1973) et vingt fois plus élevée que dans le cortex préfrontal (Bowers, 1984), les ASGs bloquent préférentiellement les récepteurs DRD2 extrastriataux qui ne sont pas associés au développement des effets extrapyramidaux (Seeman *et al.*, 1997).

#### 1.3.4.2.2.2. L'activité anticholinergique

Les APs possèdent, à des degrés variables, une activité antagoniste des récepteurs muscariniques. Certains ASGs, comme la clozapine, ont une activité anticholinergique particulièrement élevée, qui est associée à une amélioration des symptômes parkinsoniens. (Seeman *et al.*, 1997).

#### 1.3.4.2.2.3. L'antagonisme du récepteur sérotonergique

La plupart des ASGs sont des antagonistes des récepteurs DRD2 et sérotonergiques 5-HT<sub>2A</sub> (Leysen *et al.*, 1994; Meltzer, 1989; Meltzer, 1995). Les récepteurs sérotonergiques (5-HT; 5-hydroxytryptamine/sérotinine) sont impliqués dans la régulation de la libération de DA. Plus précisément, le bloc du récepteur 5-HT<sub>2A</sub> augmente la libération de DA, donc la DA déplace l'ASG du récepteur DRD2. Le bloc du récepteur DRD2 étant moins persistant, on observe moins d'effets extrapyramidaux (Seeman *et al.*, 1997). Le récepteur sérotonergique 5-HT<sub>2A</sub> est exprimé sur les interneurones GABAergiques du cortex et sur

les neurones contrôlant la DA dans l'ATV (Meltzer *et al.*, 2003). Certains ASGs, comme le rispéridone et la clozapine, lient préférentiellement le récepteur 5-HT<sub>2A</sub> comparativement au récepteur DRD2 (Schotte *et al.*, 1996) et sont associés à une faible incidence des effets extrapyramidaux (Meltzer, 1989; Seeman et Van Tol, 1994).

#### 1.3.4.2.2.4. L'amisulpride

Pour l'amisulpride, un benzamide avec d'autres propriétés pharmacologiques, d'autres mécanismes peuvent expliquer la faible incidence des effets extrapyramidaux. Il a été rapporté que l'amisulpride est un ASG qui a une faible affinité pour le récepteur sérotonergique 5-HT<sub>2A</sub> (Schoemaker *et al.*, 1997), mais qui antagonise les récepteurs DRD2 et DRD3 principalement extrastriataux (Vernaleken *et al.*, 2004; Xiberas *et al.*, 2001) en raison d'une dissociation rapide du récepteur. Il est efficace pour le traitement de la schizophrénie tout en induisant une faible incidence d'effets extrapyramidaux (Correll *et al.*, 2004). De plus, l'amisulpride, comparativement aux autres APs, traverse de façon limitée la barrière hémato-encéphalique et n'atteint donc pas le pourcentage d'occupation du récepteur DRD2 qui est nécessaire au développement des effets extrapyramidaux (Kapur *et al.*, 2002).

#### 1.3.4.2.2.5. Les autres effets secondaires

Par contre, même s'il a été démontré que la clozapine, un ASG, diminue les mouvements dyskinétiques chez les patients (Bassitt et Louza Neto, 1998), quelques cas de dyskinésie tardive ont été rapportés avec le traitement à la clozapine (de Leon *et al.*, 1991). De plus, les ASGs sont associés à plusieurs effets métaboliques majeurs, comme le gain de poids, l'altération de la régulation du glucose et l'augmentation du niveau plasmatique de lipides, ce qui augmente le risque de développement de la résistance à l'insuline, du diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires (Basu et Meltzer, 2006). On observe aussi d'autres effets secondaires métaboliques comme l'hyperprolactinémie et la sédation (Melkersson *et al.*, 2001; Stanniland et Taylor, 2000).

#### 1.4. Le stress oxydatif

Le système dopaminergique est grandement impliqué dans l'action antipsychotique et les effets extrapyramidaux/secondaires du traitement de la schizophrénie. Cependant, le stress oxydatif est un autre mécanisme impliqué dans la physiopathologie de la schizophrénie et dans la réponse aux APs.

##### 1.4.1. La description du stress oxydatif

En conditions non-pathologiques, une homéostasie entre les molécules pro-oxydantes et la défense antioxydante existe et est nécessaire pour la régulation de la fonction cellulaire (Finkel et Holbrook, 2000; Mahadik *et al.*, 2001) (voir la figure 7). Le stress oxydatif se caractérise par une perturbation de cet équilibre, qui est causée par une surproduction des molécules pro-oxydantes et/ou un déficit de la défense antioxydante, ce qui compromet la fonction cellulaire de plusieurs sites ciblés (Halliwell, 1992). Ce phénomène est impliqué dans plusieurs désordres neuropsychiatriques comme la schizophrénie, le syndrome de Down, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer (Fiskum *et al.*, 2003; Mahadik et Mukherjee, 1996; Reddy et Yao, 1996; Simonian et Coyle, 1996).

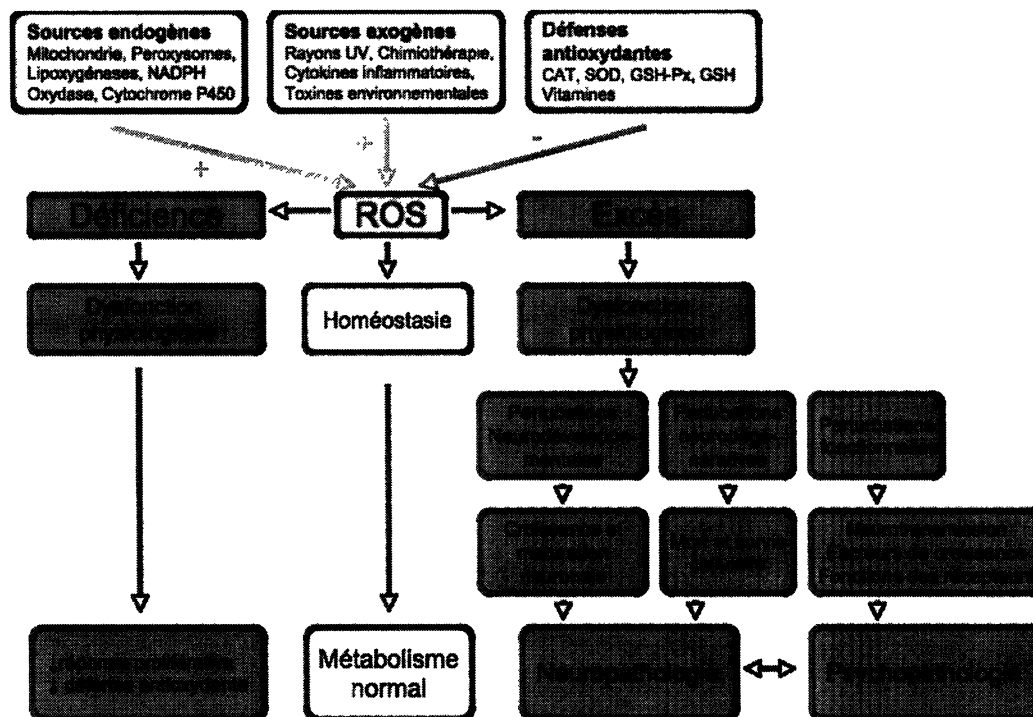


Figure 7. L'importance de l'homéostasie oxydative. Des facteurs pro-oxydants (endogènes et exogènes) et la défense antioxydante régulent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, de l'anglais *reactive oxygen species*). Une défiance de la production de ROS amène une dysfonction physiologique caractérisée par une diminution de la réponse proliférative et de la défense antioxydante, alors qu'un excès de la génération de ROS amènent plusieurs altérations qui augmentent le risque de neuropathologie et de psychopathologie (image basé sur Finkel et Holbrook, 2000; Mahadik *et al.*, 2001).

#### 1.4.2. Le mécanisme du stress oxydatif

##### 1.4.2.1. Les molécules pro-oxydantes

Si les radicaux libres, c'est-à-dire les espèces réactives de l'oxygène (ROS, de l'anglais *reactive oxygen species*) et les espèces réactives de l'azote (RNS, de l'anglais *reactive nitrogen species*), ne sont pas éliminés par les défenses antioxydantes, ils peuvent causer des dommages cellulaires, tels que la peroxydation des lipides membranaires, l'oxydation des protéines et les dommages à l'ADN. Ceci amène une altération de la structure et de la perméabilité membranaires et de la transduction du signal. La production des ROS s'effectue majoritairement dans la mitochondrie. En effet, les anions superoxyde sont

produits au niveau des complexes I (NADH déhydrogénase) et III (ubiquinone-cytochrome c réductase) de la mitochondrie. Le complexe III mitochondrial est le site principal de production de ROS en conditions métaboliques normales, alors qu'en conditions pathologiques, le complexe I mitochondrial est la principale source de ROS (Finkel et Holbrook, 2000) (voir la figure 8).

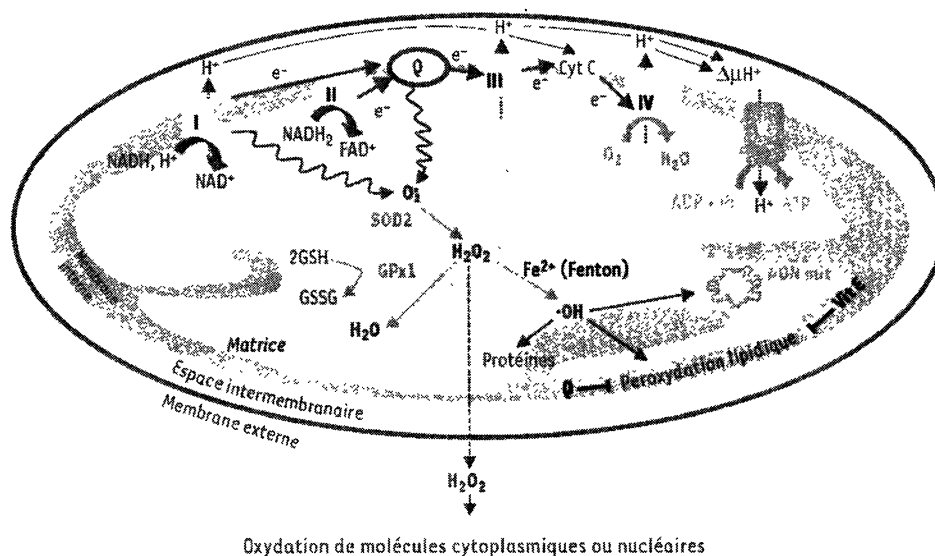


Figure 8. La production mitochondriale des espèces réactives de l'oxygène. La production des espèces réactives de l'oxygène (ROS, de l'anglais *reactive oxygen species*), principalement de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et du radical hydroxyl ( $OH^{\cdot}$ ), s'effectue au niveau des complexes I et III de la mitochondrie (Carriere *et al.*, 2006).

#### 1.4.2.2. La défense antioxydante

##### 1.4.2.2.1. La défense antioxydante enzymatique

La superoxyde dismutase (SOD) (E.C.1.15.1.6), la glutathion peroxydase (GSH-Px) (E.C.1.11.1.9) et la catalase (CAT) (E.C.1.11.1.6) sont les enzymes participant à la défense antioxydante. La SOD dismute les anions superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) pour former le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), qui est décomposé en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ) par la GSII-Px et la CAT. Cette dernière composition prévient la formation de radicaux hydroxyl ( $OH^{\cdot}$ ) à

partir du  $\text{H}_2\text{O}_2$  et donc l'initiation du phénomène de peroxydation lipidique (Yao *et al.*, 2001) (voir la figure 9).

#### 1.4.2.2.2. La défense antioxydante non-enzymatique

La défense antioxydante non-enzymatique est composée du glutathion (GSH), de l'albumine, de l'acide urique, de l'acide ascorbique et de la bilirubine, qui sont des molécules endogènes, et des vitamines A et E ( $\alpha$ -tocophérol) et de l'ascorbate, qui sont des molécules exogènes, c'est-à-dire qui ne sont pas synthétisées par l'organisme et qui doivent être administrées. La forme réduite du GSH subit une oxydation, catalysée par l'enzyme GSH-Px, pour générer la forme oxydée du glutathion (GSSG), qui est à son tour réduite par l'enzyme glutathion réductase (GR) (E.C.1.8.1.7.). L'albumine, l'acide urique et l'acide ascorbique contribuent à plus de 85% à la capacité totale antioxydante du plasma humain (Wayner *et al.*, 1987). Les antioxydants non-enzymatiques agissent principalement en « scavenging » les radicaux libres et en prévenant la conversion des ions ferriques, en ions ferreux, qui facilite la génération de radicaux hydroxyl ( $\text{OH}^\cdot$ ) (voir la réaction de Fenton ultérieurement) (Halliwell et Gutteridge, 1984).

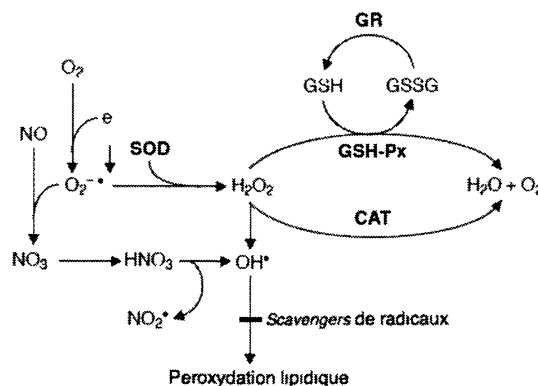
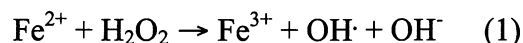


Figure 9. La production des radicaux libres et le mécanisme de défense contre le dommage induit par les radicaux libres. La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la conversion de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) en peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). La glutathion peroxydase (GSH-Px) et la catalase (CAT) convertissent le  $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et en oxygène ( $\text{O}_2$ ). La forme réduite du glutathion (GSH) est oxydée (GSSG) par la GSH-Px et la forme oxydée est reconvertie en GSH par la glutathion réductase (GR). S'il n'est pas converti en  $\text{H}_2\text{O}$  et en  $\text{O}_2$ , le  $\text{H}_2\text{O}_2$  peut subir une auto-oxydation pour former le radical hydroxyl ( $\text{OH}^\cdot$ ). L'oxyde nitrique (NO) peut produire les radicaux hydroxyl et dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2$ ) (modifié de Yao *et al.*, 2001).



L'auto-oxydation du  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{OH}\cdot$  s'effectue via la réaction de Fenton (1), qui est favorisée par l'action catalytique des métaux de transition, comme le fer (Halliwell, 1989).



Le radical  $\text{OH}\cdot$  attaque les acides gras polyinsaturés (PUFAs, de l'anglais *polyunsaturated fatty acids*) de la membrane neuronale pour leur retirer un hydrogène et ainsi produire des radicaux libres, ce qui initie la peroxydation lipidique, un marqueur de stress oxydatif (Halliwell, 1989).

#### 1.4.3. Le lien entre la dopamine et le stress oxydatif

Les catécholamines (DA, noradrénaline et 5-HT) sont une source additionnelle de radicaux libres durant leur métabolisme par la monoamine oxydase (MAO) ou leur auto-oxydation (Cadet et Brannock, 1998). La production d' $\text{H}_2\text{O}_2$  engendré par le métabolisme de la DA est biphasique : la phase précoce consiste en l'auto-oxydation de la DA, alors que la phase tardive est régulée par le métabolisme de la DA par la MAO (Kulagina et Michael, 2003). Il a été rapporté que la DA est plus nuisible que les autres catécholamines (Cadet et Brannock, 1998; Maker *et al.*, 1986) à cause de son métabolisme médié par MAO, qui produit du  $\text{H}_2\text{O}_2$  et peut amener la formation de quinones et de semi-quinones, des métabolites toxiques qui peuvent endommager les protéines et l'ADN (Segura-Aguilar *et al.*, 1998). En fait, la métabolisation de la DA en DOPAC, catalysée par MAO, génère du  $\text{H}_2\text{O}_2$ . D'un autre côté, la DA peut subir une auto-oxydation, médiée par le manganèse (Mn), pour former l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), qui est à son tour convertie en  $\text{H}_2\text{O}_2$  via l'action de la superoxyde dismutase (SOD). Le  $\text{H}_2\text{O}_2$  est ainsi susceptible de s'auto-oxyder pour former le radical hydroxyl ( $\text{OH}\cdot$ ) et ainsi initier la peroxydation lipidique (Yao *et al.*, 2001) (voir la figure 10). L'augmentation du métabolisme de DA a été associée avec une augmentation de la peroxydation lipidique (Masserano *et al.*, 2000). Lorsque la défense antioxydante est faible, la DA est susceptible de subir une auto-oxydation (Zhang et Dryhurst, 1994) qui génère des radicaux libres. La DA est la catécholamine dont la

concentration est la plus élevée, surtout au niveau striatale, ce qui expose le striatum à un stress oxydatif plus élevé (Cadet et Brannock, 1998).

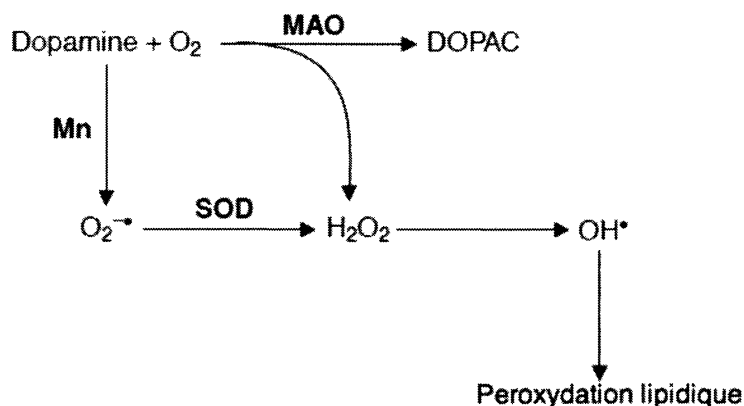


Figure 10. L'auto-oxydation et la déamination oxydative de la dopamine. La métabolisation de la dopamine en acide dihydrophénylacétique (DOPAC), catalysée par l'enzyme monoamine oxydase (MAO), génère du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Aussi, la dopamine peut subir une auto-oxydation, médiée par le manganèse (Mn), pour former l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), qui est à son tour convertie en  $\text{H}_2\text{O}_2$  via l'action de la superoxyde dismutase (SOD). Le  $\text{H}_2\text{O}_2$  est ainsi susceptible de s'auto-oxyder pour former le radical hydroxyl ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) et ainsi initier la peroxydation lipidique (modifié de Yao *et al.*, 2001).

#### 1.4.4. Les marqueurs de stress oxydatif

La mesure de la peroxydation lipidique, qui consiste en la dégradation des PUFAs (Esterbauer *et al.*, 1991), est un biomarqueur de stress oxydatif. Le malonedialdéhyde (MDA) et les hydroxyalkénals (HAEs) sont des sous-produits de la peroxydation lipidique et peuvent être évalués via la mesure des espèces réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS, de l'anglais *thiobarbituric acid reactive species*). Plus précisément, le MDA et les HAEs réagissent, à pH acide et à la chaleur, avec l'acide thiobarbiturique et le 1-méthyl-2-phénylindole (1M2P) (Gerard-Monnier *et al.*, 1998). Le stress oxydatif peut aussi être mesuré via l'évaluation du dommage oxydatif aux protéines, qui peut être déterminé via la mesure des groupes carbonyles (Davies, 1987; Stadtman, 1990), qui sont formés durant l'oxydation des protéines et qui réagissent avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) (Robinson *et al.*, 1999). Le potentiel antioxydant total (TRAP, de l'anglais *total reactive antioxidant potential*) peut être aussi évalué (Wayner *et al.*, 1985). Des essais enzymatiques existent pour mesurer l'activité des enzymes SOD (Bannister et Calabrese, 1987), GSH-Px

et CAT (Dal-Pizzol *et al.*, 2001). Le dommage à l'ADN peut être déterminé via la mesure du niveau neuronal de 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OhdG) (Ng *et al.*, 2008), qui est produit par l'hydroxylation des résidus déoxyguanosines de l'ADN. Enfin, le niveau d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) peut être mesuré avec le dihydroéthidium (DHE), qui est converti par l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) en éthidium, qui émet une fluorescence rouge (Bindokas *et al.*, 1996).

#### 1.4.5. La vulnérabilité du cerveau au stress oxydatif

Des études *in vivo* (Halliwell, 1992; Mahadik et Mukherjee, 1996) ont démontré que le stress oxydatif affecte particulièrement le cerveau. Plusieurs facteurs expliquent l'importante vulnérabilité du cerveau face au stress oxydatif. Premièrement, certaines régions cérébrales sont riches en catécholamines (Cohen et Spina, 1989) et sont donc exposées à un métabolisme oxydatif élevé, ce qui rend les neurones, situées dans ces aires, vulnérables à la peroxydation lipidique. La membranes neuronale, qui est essentielle au fonctionnement du SNC en raison de son rôle dans la neurotransmission, contient beaucoup de PUFAs, principalement l'acide arachidonique et l'acide docosahexaénoïque, des composants majeurs des phospholipides membranaires, qui sont ciblés par le stress oxydatif (Fendri *et al.*, 2006) et dont l'auto-oxydation (peroxydation lipidique) génère des radicaux libres (Halliwell et Gutteridge, 1984). Ensuite, le niveau basal de défense antioxydante au cerveau est faible (Halliwell, 1989; Phillis, 1994). La membrane mitochondriale, comme la membrane neuronale, est vulnérable à la peroxydation lipidique (Brown *et al.*, 1998). D'ailleurs, les mitochondries du cerveau (Ravindranath et Reed, 1990) sont sept fois plus vulnérables au stress oxydatif que les mitochondries hépatiques (Olafsdottir *et al.*, 1988). Aussi, les métaux rédox-catalytiques, comme le fer, sont omniprésents au niveau cérébral, facilitant la réaction de Fenton (1) et la peroxydation lipidique (Halliwell, 2006; Valko *et al.*, 2007). Enfin, l'ADN neuronal endommagé par le stress oxydatif ne peut pas être réparé, étant donné qu'il n'y a pas de réplication d'ADN au niveau du cerveau (Mahadik *et al.*, 2001).

#### 1.4.6. L'implication du stress oxydatif dans la schizophrénie

L'augmentation du stress oxydatif est impliquée dans la pathogénèse de la schizophrénie (Mahadik et Mukherjee, 1996; Mahadik et Scheffer, 1996; Yao *et al.*, 2001). La peroxydation lipidique, un marqueur de stress oxydatif, corrèle positivement avec la diminution des niveaux de PUFAs (Horrobin *et al.*, 1991). Les PUFAs sont critiques pour le développement du cerveau qui est affecté par la schizophrénie (Simopoulos, 1991; Wainwright, 1992). Une étude a démontré l'augmentation de la peroxydation lipidique dans le plasma des schizophrènes (Mahadik *et al.*, 1998). On retrouve aussi, chez les schizophrènes, une altération des niveaux d'enzymes antioxydantes. Certaines études postmortem ont rapporté une diminution des niveaux de GSH et de l'enzyme GSH-Px (Do *et al.*, 2000; Grima *et al.*, 2003). La diminution des niveaux de SOD et GSH-Px corrèle avec la sévérité des symptômes négatifs de la schizophrénie, alors que l'augmentation des mêmes niveaux est associée aux symptômes positifs de la maladie (Fendri *et al.*, 2006). On retrouve aussi une diminution du statut antioxydant plasmatique total (*TAS*, de l'anglais *total antioxidant status*), représenté par les niveaux d'albumine, de bilirubine, d'acide urique et des vitamines C et E (Yao *et al.*, 1998). L'hypothèse de l'implication du stress oxydatif dans la schizophrénie est supportée par le fait que les APGs (Jeding *et al.*, 1995; Parikh *et al.*, 2003) et les ASGs (Dakhale *et al.*, 2004) améliorent le statut oxydatif, en diminuant la peroxydation lipidique et en normalisant le niveau des enzymes antioxydantes, *in vitro et in vivo*. Aussi, le niveau de PUFAs se trouve augmenté et normalisé chez les schizophrènes traités aux APs, comparativement aux schizophrènes non-traités (Khan *et al.*, 2002). La diminution du stress oxydatif serait une conséquence de l'amélioration des symptômes psychotiques par les APs. De plus, une supplémentation diététique avec des antioxydants, comme la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), et des acides gras essentiels prévient la perturbation du statut oxydatif, c'est-à-dire l'altération de la défense antioxydante, la diminution des PUFAs et l'augmentation de la peroxydation lipidique, et améliore la symptomatologie de la schizophrénie (Mahadik et Scheffer, 1996; Mahadik *et al.*, 2001; Reddy et Yao, 1996).

#### 1.4.7. L'implication du stress oxydatif dans la dyskinésie tardive

L'implication du stress oxydatif dans le développement de la dyskinésie tardive, observée chez les schizophrènes traités chroniquement aux APs, a été rapportée depuis une vingtaine d'années (Cadet et Lohr, 1989). Bien qu'une diminution du stress oxydatif soit associée aux APs suite à l'amélioration des symptômes schizophréniques à court-terme, les APs ont des propriétés pro-oxydantes, à long-terme, associées au développement de la dyskinésie tardive (Jeding *et al.*, 1995). Des études ont rapporté que la peroxydation lipidique de la membrane neuronale par les radicaux hydroxyl (OH $\cdot$ ) a un rôle causal dans le développement de la dyskinésie tardive (Cadet, 1986). Une étude a démontré une augmentation de la carbonylation des protéines et une diminution du niveau de SOD dans le liquide cérébro-spinal (LCS) des patients atteints de dyskinésie tardive (Tsai *et al.*, 1998). Des études ont rapporté une augmentation du niveau de peroxydation lipidique dans le plasma (Peet *et al.*, 1993) et le LCS (Lohr *et al.*, 1990) des schizophrènes atteints de dyskinésie tardive. De plus, l'implication du stress oxydatif dans la dyskinésie tardive est supportée par le fait que les antioxydants, comme la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), constituent un traitement efficace (Elkashef et Wyatt, 1999; Gupta *et al.*, 1999; Soares et McGrath, 1999) pour diminuer la sévérité du désordre.

##### 1.4.7.1. Les variations de stress oxydatif entre les classes d'antipsychotiques

Les APGs et les ASGs sont associés à une diminution du stress oxydatif suite à leurs effets bénéfiques sur le traitement à court-terme de la symptomatologie schizophrénique. Cependant, les APGs ont aussi des propriétés pro-oxydantes majeures, suite à un traitement à long-terme, qui sont associées au développement de la dyskinésie tardive (Jeding *et al.*, 1995). Une étude *in vitro* (Sagara, 1998) a rapporté une augmentation de la production de ROS suite à un traitement à l'halopéridol, un APG. Une étude comparative a démontré l'augmentation de la peroxydation lipidique chez les schizophrènes traités aux APGs (halopéridol), contrairement à ceux traités aux ASGs (clozapine, quétiapine, amisulpride et rispéridone), et a associé ce stress oxydatif à une augmentation du score à l'échelle *AIMS* et donc au développement de la dyskinésie tardive (Kropp *et al.*, 2005). Ceci suggère que la

différence de potentiel pro-oxydant est un facteur médiateur dans le développement de la dyskinésie tardive suite à l'administration des APGs (Andreassen et Jorgensen, 2000). *In vivo*, l'halopéridol augmente le niveau de stress oxydatif, alors que la clozapine, un ASG, produit moins de dommage oxydatif (Reinke *et al.*, 2004). En effet, il a été rapporté que l'halopéridol augmente le niveau des TBARS, carbonylation des protéines dans plusieurs régions cérébrales (cortex, striatum et hippocampe) chez le rat (Agostinho *et al.*, 2007). D'autres études, chez le rat (Parikh *et al.*, 2003) et chez l'humain (Gama *et al.*, 2006), en plus de démontrer une augmentation des paramètres de peroxydation lipidique et une diminution de l'activité de la SOD de GSH-Px et de la CAT après un traitement chronique à l'halopéridol, rapportent que les ASGs, comme la rispéridone, l'olanzapine et la clozapine, n'altèrent pas les niveaux des enzymes antioxydantes et des produits de peroxydation lipidique. Chez la souris, une dose unique d'halopéridol augmente le niveau de la forme oxydée du glutathion (GSSG) dans le striatum (Cohen et Spina, 1989), ce qui concorde avec une diminution du niveau de glutathion (GSH) dans différentes régions cérébrales chez le rat traité de façons aigue et chronique avec le même AP (Shivakumar et Ravindranath, 1992; Shivakumar et Ravindranath, 1993). Enfin, chez le rat, l'halopéridol augmente le niveau intrastriatal de  $H_2O_2$  et le niveau extrastriatal de radicaux libres (Yokoyama *et al.*, 1998).

#### 1.4.7.1.1. Les mécanismes d'induction de stress oxydatif par l'halopéridol

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'induction du stress oxydatif par l'halopéridol. Ces mécanismes favorisent plusieurs paramètres du stress oxydatif, ce qui augmente un cercle vicieux de stress oxydatif (voir la figure 11).

##### 1.4.7.1.1.1. L'augmentation du métabolisme de la dopamine

L'halopéridol bloque le récepteur DRD2 post-synaptique (Creese *et al.*, 1976), ce qui augmente le métabolisme de la DA (Cadet et Lohr, 1989). Cette élévation du métabolisme de la DA exacerbe le stress oxydatif via une production excessive de radicaux libres (voir la section 1.4.3.) et de métabolites toxiques de la DA (Westerink et de Vries, 1989; Zhang *et*

*al.*, 1989) (voir la section 1.4.3.). L'halopéridol augmente le métabolisme de DA via une augmentation du niveau d'acide homovanillique, de DOPAC et de 3-MT (Asper *et al.*, 1973; Carlsson et Lindqvist, 1963; Nissbrandt *et al.*, 1989; Zivkovic *et al.*, 1975). En effet, il a été démontré que l'administration des APs augmente la libération striatale de DA via leur action sur les autorécepteurs DRD2 (Westerink et de Vries, 1989; Zhang *et al.*, 1989) et augmente le métabolisme de DA, catalysé par l'enzyme MAO, ce qui résulte en la formation de radicaux libres, comme le  $H_2O_2$  (Sagara, 1998; Yokoyama *et al.*, 1998), qui exercent leurs effets toxiques au striatum pour induire la dyskinésie tardive (Egan *et al.*, 1997). Il a été mentionné précédemment qu'une diminution du niveau de GSH a lieu après un traitement à l'halopéridol (Shivakumar et Ravindranath, 1993). Cette étude a aussi rapporté que ce même niveau est normalisé suite au pré-traitement avec un inhibiteur de MAO, ce qui suggère que l'augmentation du métabolisme de DA est responsable du stress oxydatif induit par l'halopéridol.

#### 1.4.7.1.1.2. La métabolisation de l'halopéridol en ion pyridinium

L'halopéridol est réduit en ion pyridinium ( $HP^+$ ), qui est une toxine mitochondriale, dans le sang et le cerveau du rat (Subramanyam *et al.*, 1990). Il a été rapporté que l'halopéridol, chez la souris, inhibe l'activité du complexe I mitochondrial dans le cortex préfrontal, le striatum et le mésencéphale (Balijepalli *et al.*, 2001) et que la perte de l'activité du complexe I mitochondrial, dans les régions extrapyramidales, par l'AP corrèle avec le développement des effets secondaires. Le 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP), une toxine provoquant les symptômes similaires à la maladie du Parkinson chez l'animal (Schmidt et Ferger, 2001), inhibe l'activité du complexe I mitochondrial (Nicklas *et al.*, 1985) via son métabolite toxique, le  $MPP^+$  (1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridinium). Étant donné que le métabolite toxique de l'halopéridol, l' $HP^+$ , a une structure similaire au  $MPP^+$  (Rollema *et al.*, 1994), il a été suggéré que l'inhibition de l'activité du complexe I mitochondrial par l'halopéridol s'effectue via l'action de son métabolite (Burkhardt *et al.*, 1993). Ainsi, l' $HP^+$  inhibe le complexe I mitochondrial, créant une dysfonction mitochondriale, ce qui est une source importante de stress oxydatif (Dauer et Przedborski, 2003; Fiskum *et al.*, 2003; Greenamyre *et al.*, 2001; Orth et Schapira,

2002). En effet, l'inhibition du complexe I mitochondrial cause une augmentation de la génération de ROS, spécialement le  $H_2O_2$  et l'anion superoxyde (Fonck et Baudry, 2003; Sipos *et al.*, 2003; Votyakova et Reynolds, 2001). Une étude (Sagara, 1998), qui a rapporté une augmentation de la production de ROS induite par l'halopéridol, a suggéré que les ROS étaient générés de la mitochondrie, et donc de la dysfonction mitochondriale, et non du métabolisme de la DA par MAO.

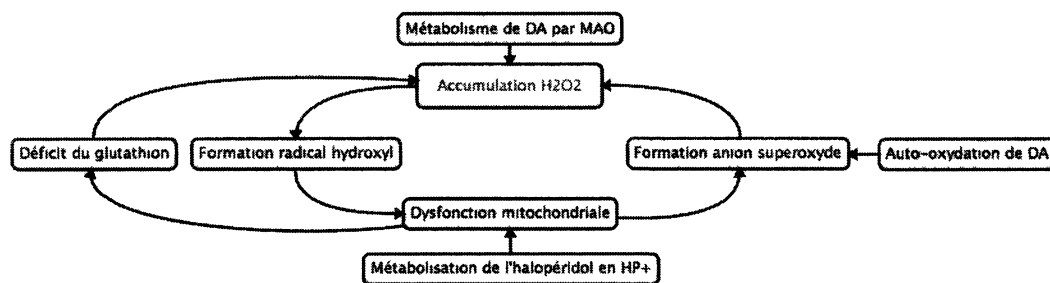


Figure 11. Les mécanismes d'induction du stress oxydatif par l'halopéridol. L'augmentation du métabolisme de dopamine (DA) par l'enzyme monoamine oxydase (MAO), l'auto-oxydation de la dopamine (DA) et la métabolisation de l'halopéridol en ion pyridinium ( $HP^+$ ) augmentent l'accumulation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), la formation d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et la dysfonction mitochondriale respectivement. Ces derniers paramètres font partie d'un cercle vicieux de stress oxydatif (schéma basé sur Packer *et al.*, 1997).

### 1.5. Les mécanismes reliant la régulation du récepteur DRD2 et le stress oxydatif dans le développement de la dyskinésie tardive

En rassemblant toutes les informations retrouvées dans la littérature scientifique, il est possible de suggérer que la surexpression du récepteur DRD2 induite par les APs, préférentiellement après un traitement chronique aux APGs, est associée au développement de la dyskinésie tardive. Quant au stress oxydatif, induit par les mêmes conditions de traitement, il corrèle avec le risque de développement de la dyskinésie tardive. Cependant, le mécanisme reliant ces deux phénomènes, chacun associé à la dyskinésie tardive, n'est pas démontré (voir la figure 12).



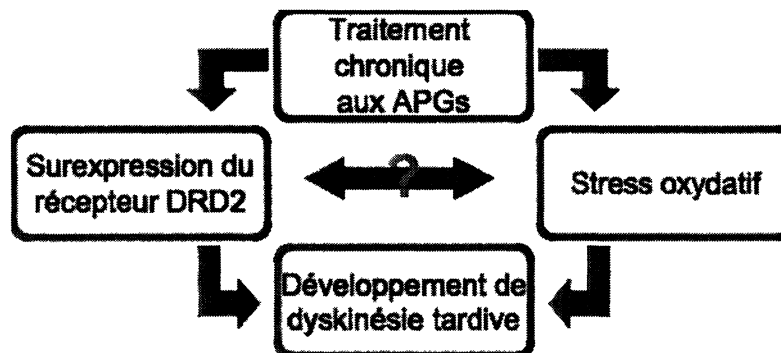


Figure 12. L'implication de la régulation du récepteur dopaminergique de type 2 (DRD2) et du stress oxydatif dans la dyskésie tardive. La surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif sont deux mécanismes impliqués dans le développement de la dyskésie tardive. Cependant, le lien reliant ces deux phénomènes est mal compris.

#### 1.5.1. La régulation du récepteur DRD2 par le stress oxydatif

Un haut niveau de stress oxydatif est associé à un haut niveau de DA, ce qui est lié à la pathophysiologie de la dyskésie tardive (Brown *et al.*, 1998). De plus, une diminution du taux de GSH, qui est associé au stress oxydatif, en conjonction avec une augmentation du niveau de DA par un inhibiteur de la recapture provoque, *in vivo*, des déficits morphologiques (Cabungcal *et al.*, 2006) et comportementaux (Cabungcal *et al.*, 2007; Castagne *et al.*, 2004; Castagne *et al.*, 2004) similaires à la pathophysiologie de la schizophrénie. Récemment, il a été démontré, dans mon laboratoire d'accueil, que le  $H_2O_2$  induit une surexpression du récepteur DRD2 dans la lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y (Larouche *et al.*, 2008).

#### 1.6. Les objectifs du projet

L'hypothèse de recherche stipule que le stress oxydatif est impliqué dans la surexpression du récepteur DRD2 induite par les APs, préférentiellement les APGs, et que leurs effets peuvent être atténués via l'administration d'un antioxydant. Les objectifs spécifiques du projet sont :

- de développer un modèle cellulaire (voir la section 5.1.1. pour la description et la justification du modèle) de surexpression du récepteur DRD2 via le traitement aux APs;
- d'étudier de manière comparative les APGs et les ASGs sur ce même modèle cellulaire;
- de vérifier l'impact du stress oxydatif sur la régulation du récepteur DRD2 via l'administration d'un antioxydant (voir la section 5.1.3. pour la description et la justification du choix de l'antioxydant);
- de vérifier l'implication directe du stress oxydatif via l'évaluation de différents biomarqueurs de stress oxydatif.

## 2. Avant-propos de l'article

### **Antipsychotic-induced DRD2 up-regulation and its prevention by alpha-lipoic acid in SH-SY5Y neuroblastoma cells**

**Auteurs de l'article :** Jessica Deslauriers, Marilou Lefrançois, Annie Larouche, Philippe Sarret, Sylvain Grignon

**Statut de l'article :** accepté au journal Synapse le 26 juillet 2010

#### **Avant-propos :**

J'ai participé entièrement à la conception et à la réalisation des expériences et à l'analyse des résultats décrits dans cet article. J'ai contribué à la rédaction de l'article en écrivant la première version du manuscrit et en participant à son amélioration.

### 3. Résumé de l'article

#### **Antipsychotic-induced DRD2 up-regulation and its prevention by alpha-lipoic acid in SH-SY5Y neuroblastoma cells**

Les antipsychotiques (APs) sont, pour la plupart, des antagonistes du récepteur dopaminergique de type 2 (DRD2) et constituent le principal traitement pharmacologique de la schizophrénie, une maladie mentale chronique. Par contre, un traitement chronique aux APs est associé à la dyskinésie tardive, un phénomène impliquant la surexpression du DRD2 et le stress oxydatif. Cependant, le lien entre ces deux derniers mécanismes se trouve mal compris. Précédemment, notre groupe de laboratoire a rapporté que le stress oxydatif, induit par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), augmente, *in vitro*, l'expression du DRD2. L'hypothèse de recherche est que le stress oxydatif serait directement associé à la surexpression du DRD2, induite par les APs et impliquée dans leurs effets secondaires, telle que la dyskinésie tardive. L'article présenté ici rapporte les effets des APs sur les niveaux d'expression du DRD2 et les effets de l'inhibition du stress oxydatif par le traitement à l'acide lipoïque, un antioxydant, dans la lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y. Il est démontré que l'halopéridol, un AP de première génération, induit une augmentation des niveaux (ARNm et protéique) du DRD2, alors que l'amisulpride, un AP de deuxième génération, n'a pas d'effet significatif. De plus, l'halopéridol augmente les niveaux des biomarqueurs du stress oxydatif (carbonylation des protéines, peroxydation lipidique et production de l'anion superoxyde) de façon plus importante que l'amisulpride. L'acide lipoïque atténue la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif induits par l'halopéridol. L'inhibition de la synthèse de catécholamine par l'alpha-méthyl-DL-tyrosine (AMPT) élève l'expression du DRD2 et prévient sa surexpression par les APs, ce qui suggère l'importance de la concentration de catécholamines pour l'action des APs. Nos résultats suggèrent que la surexpression du DRD2 induite par l'halopéridol est liée au stress oxydatif, ce qui serait associé à la dyskinésie tardive, et proposent que l'acide lipoïque peut être considéré comme un agent thérapeutique potentiel pour la prévention et le traitement des effets secondaires reliés à l'utilisation des APs.

**Antipsychotic-induced DRD2 up-regulation and its prevention by alpha-lipoic acid  
in SH-SY5Y neuroblastoma cells**

Jessica Deslauriers<sup>1</sup>, Marilou Lefrançois<sup>1</sup>, Annie Larouche<sup>2</sup>, Philippe Sarret<sup>1</sup>, Sylvain Grignon<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Biophysics and <sup>2</sup>Department of Psychiatry, Faculty of Medicine and Health Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4

Running title: DRD2 regulation by antipsychotics and alpha-lipoic acid

## Abstract

Most antipsychotic drugs are dopamine D2 receptor (DRD2) antagonists and remain the main pharmacological treatment of schizophrenia. Long-term antipsychotic use can give rise to tardive dyskinesia. It has been reported that chronic treatment with antipsychotics induces DRD2 up-regulation and oxidative stress, which have been associated with tardive dyskinesia. We showed previously that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress increased DRD2 expression in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. We report here the effects of antipsychotic drugs on DRD2 expression levels in the same cell line and the effects of the inhibition of oxidative phenomena by (±)-α-Lipoic acid treatment. Haloperidol, a first-generation antipsychotic, induced an increase in DRD2 protein and mRNA levels, while amisulpride, a second-generation antipsychotic, had no significant effect. (±)-α-Lipoic acid pre-treatment reversed the haloperidol-induced DRD2 up-regulation in mRNA and protein levels. Furthermore, haloperidol induced a larger increase of oxidative stress biomarkers (protein carbonylation, lipid peroxidation and superoxide anion production) than amisulpride. (±)-α-Lipoic acid also attenuated antipsychotic-induced oxidative stress. Inhibition of catecholamine synthesis by alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT) increased DRD2 expression and prevented further increase by antipsychotics. Our results suggest that haloperidol-induced DRD2 up-regulation is linked to oxidative stress and provide potential mechanisms by which (±)-α-Lipoic acid can be considered as a therapeutic agent to prevent and treat side effects related to the use of first-generation antipsychotics.

## Key words

dopamine, SH-SY5Y, schizophrenia, haloperidol, amisulpride, oxidative stress

## Introduction

Most antipsychotic (AP) drugs are dopamine D2 receptor (DRD2) antagonists and remain the main pharmacological treatment of schizophrenia. Long-term AP treatment can be associated with tardive dyskinesia, a serious and long lasting neurological syndrome. Affecting up to 20-40% of patients receiving chronic first-generation antipsychotic (FGA) medication (Morgenstern and Glazer, 1993), tardive dyskinesia is characterized by involuntary movements of the orofacial region and other parts of the body. Despite its high frequency of occurrence, the pathophysiology of this disorder is not well understood (Paulson, 2005) and treatments still remained unsatisfactory (Soares and McGrath, 1999). It has been reported that, after chronic treatment, antipsychotics with high affinity for DRD2, like haloperidol, induced DRD2 up-regulation in human (Silvestri et al., 2000) and rat (Bernard et al., 1991) striatal neurons. Importantly, in a follow-up study using single photon emission tomography, antipsychotic-induced DRD2 up-regulation was correlated with the development of tardive dyskinesia (Schroder et al., 1998). Oxidative stress, a phenomenon involved in many human diseases and in neurodegeneration (Halliwell, 1987), has been implicated in haloperidol effects (Cadet, 1994; Pai et al., 1994). Indeed, it has been reported that the oxidative stress resulting from haloperidol administration induced elevation of lipid peroxidation in both rats (Shivakumar and Ravindranath, 1993) and psychotic patients (Lohr et al., 1990; Pai et al., 1994). Accordingly, haloperidol, as well as other FGAs, increases the production of reactive oxygen species (ROS) in primary neurons (Sagara, 1998). Neuronal cell membranes contain a high amount of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), which are susceptible to oxidative stress. Therefore, the generation of lipid peroxidation products leads to altered metabolism of membrane phospholipids and to neuronal dysfunction and damage (Kropp et al., 2005). Thus, lipid peroxidation conduces to the apparition of severe side effects and could be involved in the pathogenesis of tardive dyskinesia (Brown et al., 1998; Cadet and Lohr, 1989; Tsai et al., 1998).

Clinically, it has been demonstrated that oxidative stress is higher with FGAs than with second-generation antipsychotics (SGAs), which strengthens the link between oxidative stress and tardive dyskinesia (Kropp et al., 2005; Pillai et al., 2007). Although

the relationship still remains hypothetical, previous studies have confirmed a lower risk for tardive dyskinesia with SGAs, which parallels their lower effect on oxidative stress (Dakhale et al., 2004; Kropp et al., 2005); although the risk is by no means absent (Tenback et al., 2009). These accumulating data suggest that tardive dyskinesia is probably associated with striatal oxidative status disturbances and DRD2 up-regulation (Agostinho et al., 2007; Fachinetto et al., 2005; Thaakur and Himabindhu, 2009), but the relationship between these two phenomena is not well understood. We have recently demonstrated that oxidative stress induced by 100  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increased DRD2 expression in human SH-SY5Y neuroblastoma cells (Larouche et al., 2008). These findings lead us to examine whether this DRD2 up-regulation could be elicited by antipsychotic drug application on the human SH-SY5Y neuroblastoma cell line and if oxidative stress was involved in this response.

## **Materials and methods**

### *Materials*

Mouse monoclonal DRD2 (B-10), mouse monoclonal Bcl-2 (C-2), goat anti-mouse IgG-HRP and goat anti-rabbit IgG-HRP antibodies were purchased from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA). Anti-dinitrophenyl-KLH rabbit antibody was purchased from Invitrogen (Burlington, ON, Canada). Mouse monoclonal  $\beta$ -actin antibody, haloperidol, amisulpride, alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT), ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid, thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT), 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), 1-methyl-2-phenylindole (1M2P) and dihydroethidium (DHE) were all purchased from Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada).

### *Cell culture and treatment*

An undifferentiated human SH-SY5Y neuroblastoma cell line (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) was cultured in Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) with 4.5 mg/L D-glucose, 2 mM L-glutamine, 110 mg/L sodium pyruvate (Invitrogen, Burlington, ON, Canada) and supplemented with 10% foetal bovine serum,



100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin and MEM non-essential amino acids (all media supplements were purchased from Wisent Bioproducts, St-Bruno, QC, Canada). For the *in vitro* experiments, haloperidol and amisulpride were dissolved in 100% dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada). AMPT was dissolved in HCl 1 N, while (±)-α-Lipoic acid was dissolved in 100% ethanol. Cells were incubated with 10 nM haloperidol or with 100 nM amisulpride (3 h for PCR analysis or 6 days for western blotting analysis). For studying the effect of (±)-α-Lipoic acid or AMPT, cells were exposed to 200 µM (±)-α-Lipoic acid (Jia et al., 2008) 24 h before treatment with haloperidol or amisulpride, or 1 mM AMPT (Kume et al., 2008) for 24 h.

#### *Cell viability assay*

Cell respiration, an indicator of cell viability, was assayed as described previously (Grignon et al., 1996). SH-SY5Y cells were grown on 12-well plates. A 0.5% (w/v) stock solution of thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) was prepared in sterile Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (D-PBS) (containing 2.67 mM KCl, 1.47 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 137.93 mM NaCl and 8.06 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) (Invitrogen, Burlington, ON, Canada). Cells were treated with 0.025% (w/v) MTT and incubated until blue crystals were appeared (30-60 min). Then, culture media was removed and cells were suspended in 1 mL 100% dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada). Absorbance was measured at 550 nm against 100% dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) as a blank.

#### *Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis*

As described previously (Larouche et al., 2008), RNA from SH-SY5Y cell line were acquired with TRIzol reagent (Invitrogen, Burlington, ON, Canada), following manufacturer's instructions, and quantified by Nanodrop® (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA). For reverse transcription, RNA (1 µg) was incubated with 0.02% (w/v) random primer (Roche Applied Science, Laval, QC, Canada) for 5 min at 70°C, followed by an incubation at 42°C for 60 min and 94°C for 5 min with 1 mM dNTPs (Roche Applied Science, Laval, QC, Canada), 20 U RNase inhibitor (Invitrogen,

Burlington, ON, Canada) and 30 U reverse transcriptase AMV (Roche Applied Science, Laval, QC, Canada). cDNA (1 µL) was amplified with PCR thermocycler (Biometra, Goettingen, Germany) with a mix of 1 mM of each primer pair (Integrated DNA Technologies, Toronto, ON, Canada), 0.4 mM dNTPs, 2.5 µL 10X PCR buffer and 1 U Taq polymerase (Roche Applied Science, Laval, QC, Canada). For DRD2 analysis, the primers were 5'-TCGTCATCGCTGTCATCGTC-3' (forward) and 5'-CAGCTGTGTACCTGTCGATG-3' (reverse) (Larouche et al., 2008) and the parameters were: 94°C 2 min followed by 30 cycles (94°C 45 sec, 60°C 45 sec and 72°C 30 sec) and 72°C 7 min. For GAPDH analysis, the primers were 5'-CCAAAGTTGTCATGGATGAC-3' (forward) and 5'-GTGAAGGTCGGTGTGAACCG-3' (reverse) and the parameters were: 94°C 2 min followed by 25 cycles (94°C 40 sec, 55°C 40 sec and 72°C 60 sec) and 72°C 10 min. cDNA product (10 µL) was migrated in 2% agarose gel with TBE 1X (90 mM Tris, 90 mM boric acid and 2 mM EDTA) containing ethidium bromide and densitometric analysis was done using Quantity One and NIH ImageJ softwares. GAPDH was used as reference for PCR analysis. Data were analyzed using Mann-Whitney test.

#### *Analysis of protein expression*

Whole cell protein extracts were acquired when SH-SY5Y cells were grown to 90% confluence (100 mm cell culture dishes). Cells were washed twice with D-PBS (Invitrogen, Burlington, ON, Canada), scraped and lysed, on ice for 15 min, with RIPA buffer : 20 mM Tris pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1.0% (v/v) Nonidet-P40, 0.5% (w/v) Na-deoxycholate, 0.1% (w/v) SDS supplemented with SIGMAFAST™ protease inhibitor cocktail 1X (containing 4-(2-Aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride hydrochloride (AEBSF), bestatin hydrochloride, leupeptin, E-64, aprotinin, pepstatin A, and phosphoramidon disodium salt) (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada). After centrifugation at 13,000 g for 15 min, supernatant (total protein extract) was kept and stored at -20°C until usage. Protein concentrations were measured by the Coomassie Plus (Bradford) Protein Assay reagent (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA), using bovine serum albumin (BSA) as a standard. Western blotting was done as described previously (Larouche et al., 2008). Soluble proteins (10-30 µg) had migrated by SDS-

PAGE electrophoresis (10% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel) for 1 h 30 min at 120 V and transferred onto Immobilon-P polyvinylidene fluoride (PVDF) transfer membrane (Millipore, Billerica, MA, USA). Membranes were blocked in 8% (w/v) milk powder in Tris buffered saline (TBS) supplemented with 0.2% (v/v) Tween-20 (TBST) for 1h30 at room temperature. Incubation with primary antibodies DRD2 (1:500), Bcl-2 (1:500) and  $\beta$ -actin (1:10 000) was done at 4°C overnight. After three washes of 10 min each with TBST, membranes were incubated with secondary antibody goat anti-mouse IgG-HRP (1:10 000) for 1 h 30 at room temperature. After three other washes, membranes were developed with Western Lightning Chemiluminescence Reagent Plus (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) and Hyperfilm ECL (Amersham Biosciences, Baie d'Urfe, QC, Canada) and NIH ImageJ software was used for densitometric analysis.  $\beta$ -actin was used as reference. Data were analyzed using Mann-Whitney test.

*Colorimetric assay of lipid peroxidation with 1-methyl-2-phenylindole*

The measurement of malondialdehyde (MDA), an important toxic byproduct of lipid peroxidation, has been widely used for determining lipid peroxidation (Esterbauer and Cheeseman, 1990). The amount of MDA was assessed by its reaction with 1-methyl-2-phenylindole (1M2P). Hydrolysis of Schiff Bases was done as described previously (Gerard-Monnier et al., 1998). SH-SY5Y cells were washed once with D-PBS (Invitrogen, Burlington, ON, Canada), scraped, lysed in 30  $\mu$ L 0.04 N HCl for 80 min at 60°C and centrifuged for 10 min at 2000 g, 4°C and the supernatant retained for analysis. For the colorimetric assay (Gerard-Monnier et al., 1998), the standard curve was done using different concentrations of MDA diluted in acetonitrile/MeOH (3:1). 10  $\mu$ L of supernatant or standard was added to 32.5  $\mu$ L of a solution of 15.38 mM 1M2P in acetonitrile/MeOH (3:1) for a final concentration of 10 mM 1M2P. For each sample, a sample blank, containing 10  $\mu$ L of sample's supernatant and 32.5  $\mu$ L acetonitrile/MeOH (3:1), was included. The blank for the series of assays contained 10  $\mu$ L water and 32.5  $\mu$ L acetonitrile/MeOH (3:1). The reaction was started by adding 7.5  $\mu$ L 12 N HCl, and incubation was allowed to proceed for 40 min at 45°C. Samples were centrifuged for 10 min at 9000 g at room temperature, and the absorbance of the supernatants was read at 586

nm on a Nanodrop® spectrophotometer (Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA). Data were analysed using Mann-Whitney test.

#### *Immunochemical determination of protein carbonyl groups*

Western blotting and transfer on PVDF membranes were done as described previously. Thereafter, membranes were subjected to 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) derivatization as follows (Robinson et al., 1999). Membranes were incubated sequentially in 100% methanol (MeOH) for 1 min, in 20% MeOH-80% TBS for 5 min and in 2 N hydrochloric acid (HCl) for 5 min at room temperature. Then, membranes were incubated in a solution of DNPH (0.01 % (w/v) in 2 N HCl) for 5 min and washed three times in 2 N HCl (for 5 min per wash) and seven times in 100% MeOH (for 5 min per wash). Membranes were incubated for 5 min in TBS and blocked in 5% milk powder in TBS for 1 h at room temperature. Incubation with primary rabbit antibody anti-dinitrophenyl-KLH (1:25 000) in TBS containing 5% (w/v) milk powder and 1% (v/v) Tween-20 was performed for 1 h at room temperature. After three washes of 5 min each in TBS containing 5% (w/v) milk powder and 1% (v/v) Tween-20, membranes were incubated with goat anti-rabbit IgG-HRP (1:10 000) in TBS containing 5% (w/v) milk powder and 1% (v/v) Tween-20 for 1 h at room temperature. Membranes were washed five times for 5 min in TBS containing 5% (w/v) milk powder and 1% (v/v) Tween-20 and once with TBS containing 0.05% (v/v) Tween-20 before development with Western Lightning Chemiluminescence Reagent Plus (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) and Hyperfilm ECL (Amersham Biosciences, Baie d'Urfe, QC, Canada) and densitometric analysis with NIH ImageJ software. As blanks, membranes were treated in the same way, but DNPH solution was replaced by 2 N HCl. Data were analyzed using Mann-Whitney test.

#### *Cellular superoxide anion assay*

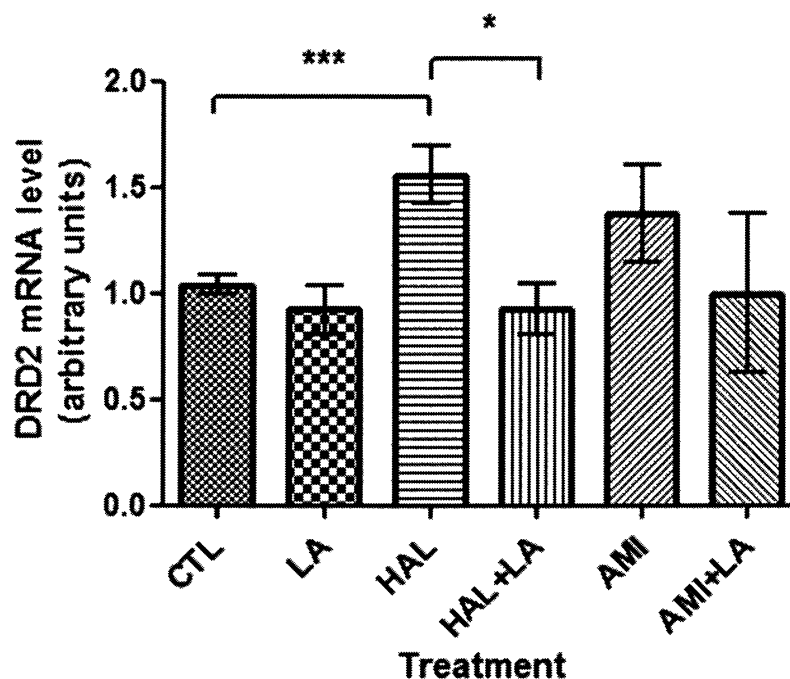
The principle of this assay is that the blue fluorescent dye dihydroethidium (DHE) is oxidized by superoxide anion ( $O_2^-$ ) to ethidium, which stains the nucleus a fluorescent red. A 5 % (w/v) stock solution of DHE in 100% dimethyl sulfoxide (Sigma-Aldrich, Oakville,

ON, Canada) was prepared and stocked at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Cells were grown on sterilized micro cover glasses (22×22 mm) in 6-well plates. SH-SY5Y cells were treated with DHE, for a final concentration of 10  $\mu\text{M}$ , 20 min before the end of antipsychotics treatment (Molina-Jimenez et al., 2004). Then, micro cover glasses were mounted on micro slides (25×75×1 mm) with ProLong<sup>®</sup> Gold antifade reagent with DAPI (Invitrogen, Burlington, ON, Canada), following manufacturer's instructions. The oxidation product of DHE was measured by confocal microscopy (Olympus Fluoview FV1000) at excitation wavelength 543 nm and the nuclear staining with DAPI was obtained at excitation wavelength 405 nm. Confocal microscope settings were maintained constant for each series of assays. The fluorescence intensity of the two fields of view was measured using Metamorph software. DHE staining was normalized with DAPI fluorescence. Data were analysed using Mann-Whitney test.

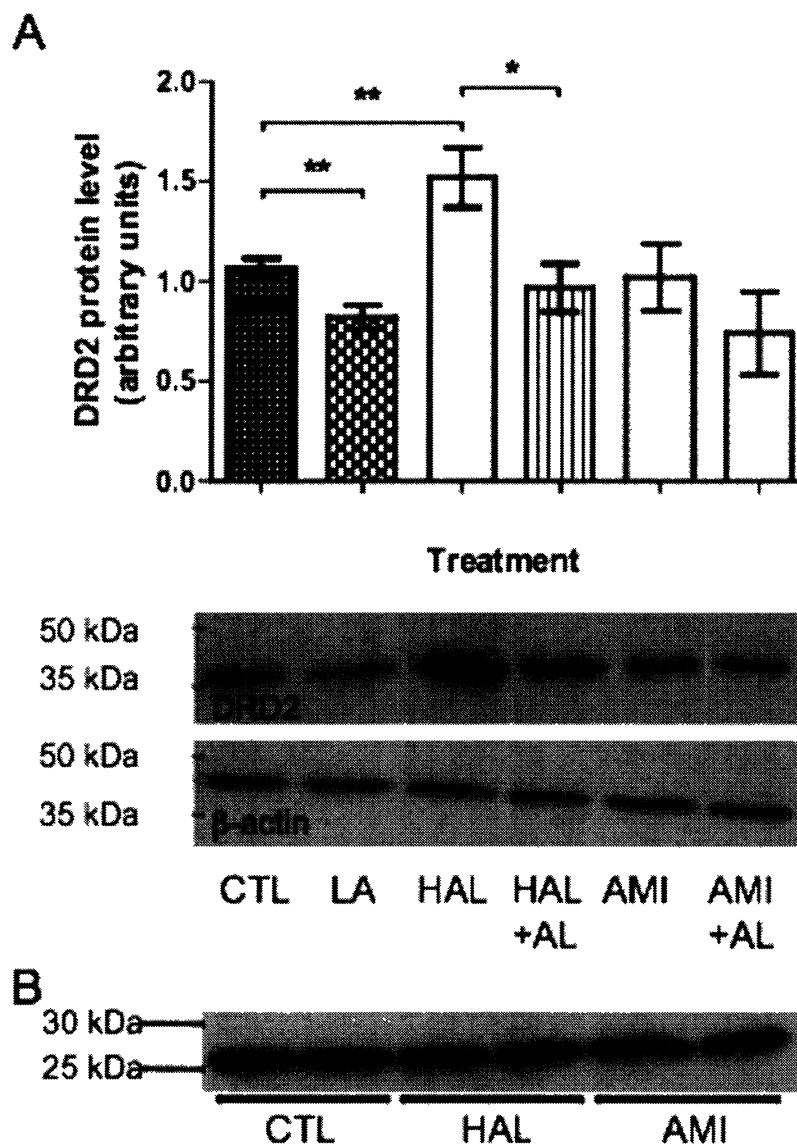
## Results

### *Effects of antipsychotics on DRD2 expression*

We first evaluated the effects of saturating, but clinically relevant concentrations (Kapur et al., 2002; Marchese et al., 2002; Muller et al., 2007) of a first-generation antipsychotic (FGA), haloperidol, and a second-generation antipsychotic (SGA), amisulpride, on the expression of dopaminergic receptor D2 (DRD2) present on undifferentiated human SH-SY5Y neuroblastoma cells. Haloperidol and amisulpride are both DRD2 specific antagonists without significant 5-HT<sub>2</sub> serotonin receptor antagonism at the concentrations used here. Acute treatment with 10 nM haloperidol for 3 h induced a robust increase in DRD2 mRNA levels (+52%;  $p<0.001$ ) (Fig. 1). We then examined whether this alteration in DRD2 mRNA expression was also evident at the protein level (Fig. 2). Haloperidol treatment for 6 days resulted in a significant increase in DRD2 protein levels, reaching a 42% elevation ( $p<0.01$ ) (Fig. 2A). Interestingly, this DRD2 up-regulation was not observed following amisulpride, the SGA, treatment. Indeed, application of 100 nM amisulpride did not change DRD2 mRNA content ( $p=0.14$ ) (Fig. 1) and protein level ( $p=0.77$ ) (Fig. 2A).



**Fig. 1.** Semi-quantitative analysis of DRD2 expression level after treatment with antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid. As compared with control (CTL), treatment for 3 h with haloperidol (HAL) (10 nM;  $n=18$ ; \*\*\* $p<0.001$ ) increased DRD2 mRNA level, while amisulpride (AMI) (100 nM;  $n=16$ ;  $p=0.14$ ) induced a lower increase. Pre-treatment for 24 h with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid (LA) (200  $\mu$ M;  $n=6$ ; \* $p<0.05$  for haloperidol,  $p=0.43$  for amisulpride and  $p=0.25$  without antipsychotic) attenuated antipsychotic-induced DRD2 up-regulation.



**Fig. 2.** (A) Western blot analysis of DRD2 expression level after treatment with antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid. As compared with control (CTL), treatment for 6 days with haloperidol (HAL) (10 nM;  $n=11$ ;  $**p<0.01$ ) up-regulated DRD2 protein level, while amisulpride (AMI) (100 nM;  $n=8$ ;  $p=0.77$ ) induced no significant changes. Pre-treatment for 24 h with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid (LA; 200  $\mu$ M) decreased spontaneous DRD2 expression ( $n=6$ ;  $**p<0.01$  compared to control) and attenuated antipsychotic-induced DRD2 up-regulation (200  $\mu$ M;  $n=6$ ;  $**p<0.01$  for haloperidol,  $p=0.30$  for amisulpride). Probing with DRD2 (B-10) and  $\beta$ -actin mouse monoclonal antibodies revealed bands at the expected molecular weight of 48 kDa and 42 kDa, respectively. (B) Western blot analysis of Bcl-2 protein expression. As compared with control (CTL), antipsychotic treatment (HAL, haloperidol; AMI, amisulpride) did not affect Bcl-2 expression. Probing with Bcl-2 (C-2) mouse monoclonal antibody detected a band at the expected size (26 kDa).

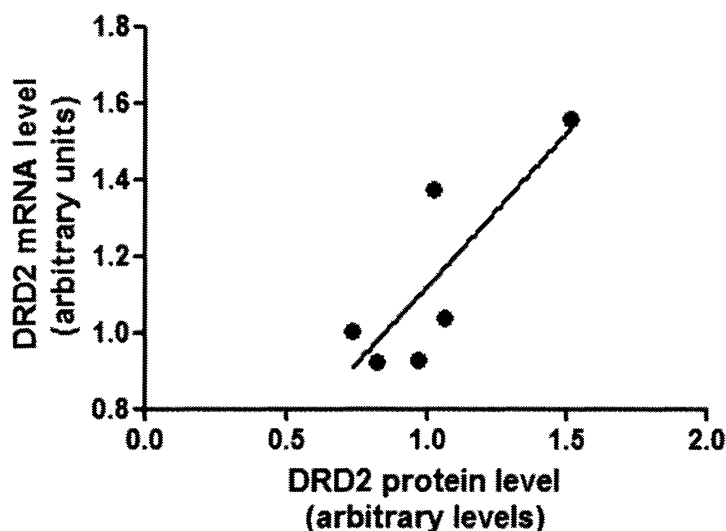
### *Effects of (±)-α-Lipoic acid on DRD2 expression*

We next investigated whether oxidative stress was responsible for DRD2 up-regulation at both mRNA and protein levels. The involvement of oxidative phenomena was determined by lipoic acid application. Pre-incubation (24 h before antipsychotic treatment) with 200 μM (±)-α-Lipoic acid reversed the antipsychotic effects on DRD2 expression. Indeed, (±)-α-Lipoic acid attenuated haloperidol-induced overexpression of DRD2 mRNA levels (haloperidol + (±)-α-Lipoic acid: -40%;  $p < 0.05$  compared to haloperidol alone) (Fig. 1). A similar trend was observed on DRD2 protein expression (haloperidol + (±)-α-Lipoic acid: -36%;  $p < 0.05$  compared to haloperidol alone) (Fig. 2A). Since amisulpride was without any effect on DRD2 mRNA level and protein production, no significant changes were observed following pretreatment with (±)-α-Lipoic acid. Furthermore, a 24 h treatment of (±)-α-Lipoic acid alone tended to decrease DRD2 expression in mRNA levels (-12%;  $p = 0.25$ ) (Fig. 1) and protein levels (-23%;  $p < 0.01$ ) (Fig. 2A).

### *Correlation between DRD2 mRNA and protein levels*

We examined whether early (3 h) transcriptional activation of DRD2, represented by DRD2 mRNA level, predicted DRD2 protein level after 6 days of incubation. Bringing all conditions together (control, haloperidol, amisulpride and (±)-α-Lipoic acid alone and with antipsychotic), we found a significant correlation between early DRD2 mRNA increase and subsequent protein levels ( $R^2 = 0.68$ ;  $p < 0.05$ ) (Fig. 3). This suggests that early transcriptional activation is an acceptable proxy for further DRD2 protein increase.





**Fig. 3.** Correlation between mRNA and protein levels. DRD2 mRNA levels correlated with DRD2 protein levels ( $R^2=0.68$ ;  $*p<0.05$ ).

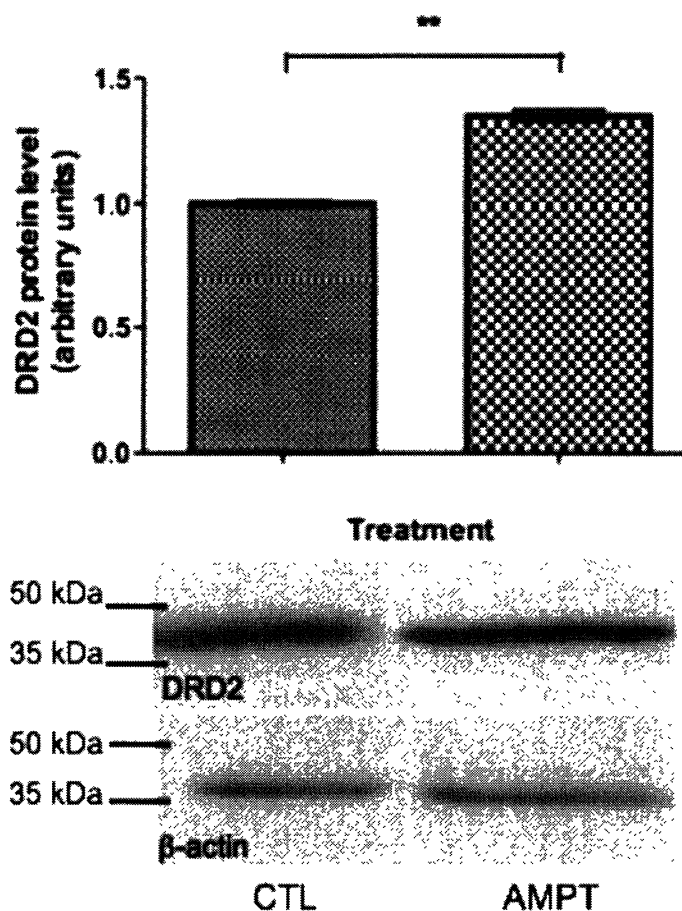
#### *Effects of antipsychotics on cell viability*

It has been previously reported that chronic treatments with neuroleptic drugs resulted in reduced cell viability (Behl et al., 1995). We therefore verified whether acute treatment for 3 h with antipsychotics (10 nM haloperidol or 100 nM amisulpride) decreased SH-SY5Y cell viability, using the thiazolyl blue tetrazolium (MTT) assay. Treatment for 3 h with antipsychotics did not reduce cell viability (data not shown). We also examined whether prolonged application of haloperidol (10 nM) and amisulpride (100 nM) to human SH-SY5Y neuroblastoma cells affected the protein levels of Bcl-2, a key regulator of programmed cell death and apoptosis. Neither antipsychotic drug induced variations in Bcl-2 expression at the protein level (Fig. 2b), confirming that haloperidol and amisulpride were not cytotoxic at the doses used here.

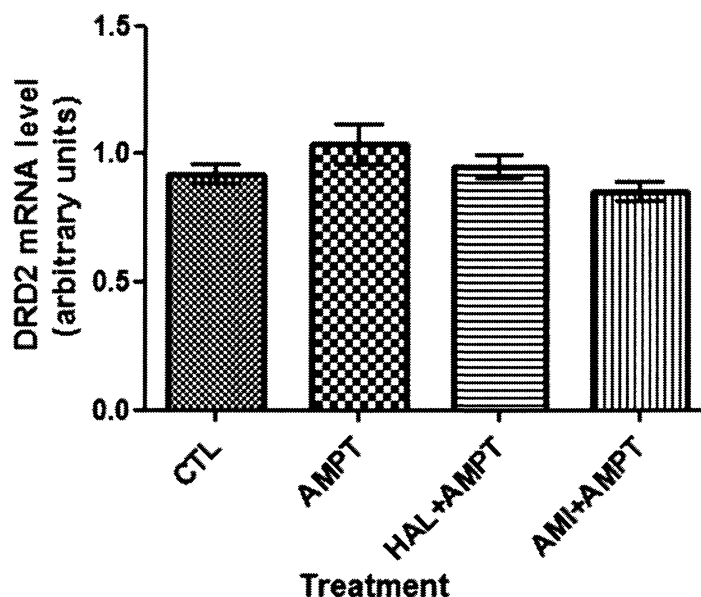
#### *Effect of alpha-methyl-DL-tyrosine on DRD2 protein levels*

SH-SY5Y cells are known to synthesize and accumulate dopamine and norepinephrine (Shaul et al., 2003), which may tonically control DRD2 expression levels. To test this hypothesis, we next investigated the effect of catecholamine depletion on DRD2

expression. Cells were then treated for 24 h with 1 mM alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT), a tyrosine hydroxylase inhibitor, which elicited a significant increase in DRD2 protein levels (+35%;  $p<0.01$ ) (Fig. 4). Interestingly, pretreatment with AMPT prevented antipsychotic-induced DRD2 mRNA up-regulation, (AMPT + 10 nM haloperidol: +3%;  $p=0.65$  and AMPT + 100 nM amisulpride: -8%;  $p=0.23$  compared to control) (Fig. 5). This suggests that catecholamine synthesis contributes to the regulation of DRD2 expression by antipsychotics.



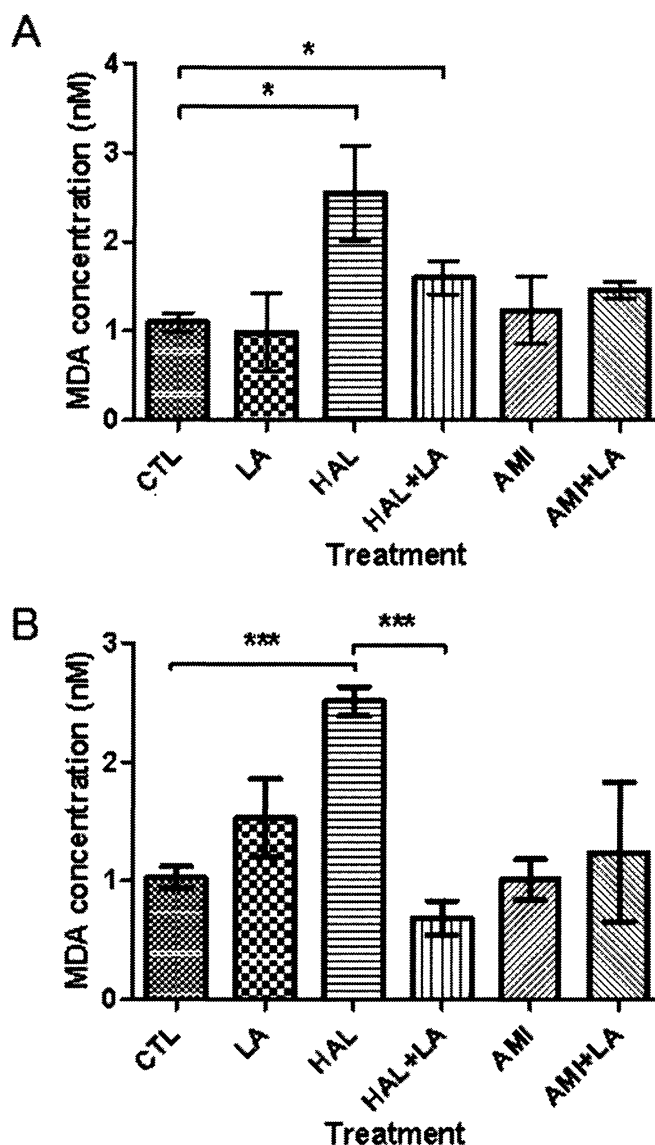
**Fig. 4.** Western blot analysis of DRD2 protein level after treatment with alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT). As compared with control (CTL), treatment for 24 h with AMPT (1 mM;  $n=3$ ;  $**p<0.01$ ) up-regulated DRD2 protein level.



**Fig. 5.** Semi-quantitative analysis of DRD2 expression level after treatment with alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT). As compared with control (CTL), treatment for 24 h with AMPT (1 mM) prevented the up-regulation of DRD2 mRNA induced by 3 h incubation with haloperidol (HAL) (10 nM;  $n=10$ ;  $p=0.65$  compared to control) or amisulpride (AMI) (100 nM;  $n=10$ ;  $p=0.23$  compared to control).

#### *Effect of antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid on malondialdehyde levels*

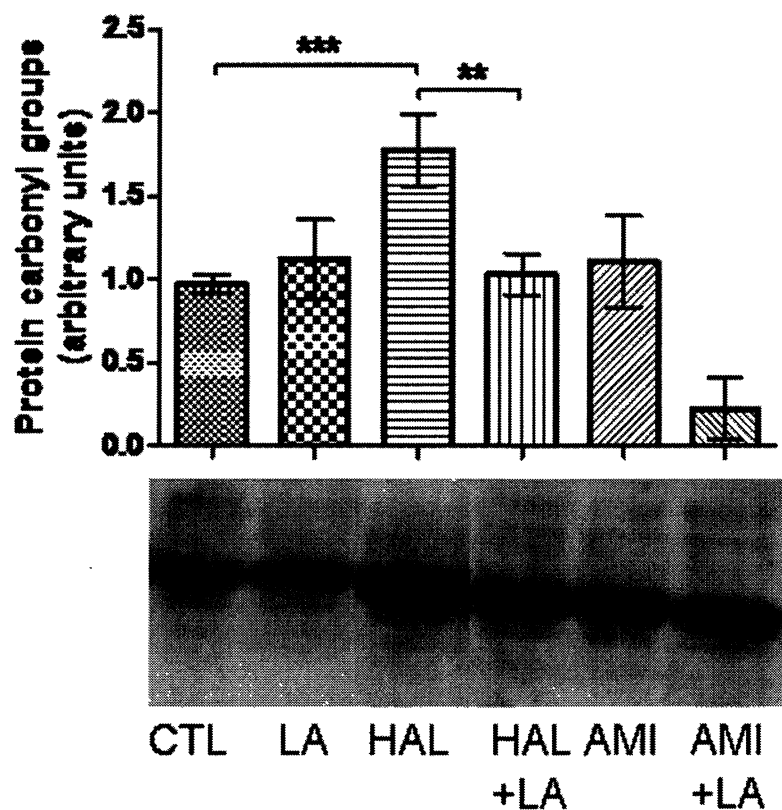
We also evaluated the implication of oxidative stress in antipsychotic- and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid-induced effects on DRD2 expression by measuring the level of lipid peroxidation products in SH-SY5Y neuroblastoma cells. The most widely used marker of lipid peroxidation is malondialdehyde (MDA). MDA levels were increased after acute treatment for 3 h with 10 nM haloperidol (+132%;  $p<0.05$ ), but not following amisulpride application (+13%;  $p=0.75$ ) (Fig. 6A). Pre-incubation for 24 h with 200  $\mu$ M ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid also tended to normalize haloperidol-induced increase of MDA level (haloperidol + ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid: -37%;  $p=0.13$  compared to haloperidol alone) (Fig. 6A). Furthermore, prolonged treatment (6 days) with 10 nM haloperidol increased MDA levels (+145%;  $p<0.001$ ), while 100 nM amisulpride did not induce significant effect (+2%;  $p=0.94$ ) (Fig. 6B). Pre-treatment with 200  $\mu$ M ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid for 6 days reversed haloperidol-induced increase of MDA concentration (haloperidol + ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid: -73%;  $p<0.001$ ) (Fig. 6B).



**Fig. 6.** Colorimetric assay of lipid peroxidation with 1-methyl-2-phenylindole. **(a)** As compared with control (CTL), treatment for 3 h with haloperidol (HAL) (10 nM;  $n=3$ ;  $*p<0.05$ ) induced an increase in malondialdehyde (MDA) concentration. This rise was not observed with the SGA, amisulpride (AMI) (100 nM;  $n=3$ ;  $p=0.75$ ). Pre-treatment for 24 h with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid (LA; 200  $\mu$ M) attenuated antipsychotic-induced increase of MDA accumulation ( $n=3$ ;  $p=0.13$  for haloperidol,  $p=0.65$  for amisulpride and  $p=0.77$  without antipsychotic). **(b)** As compared with control (CTL), treatment for 6 days with haloperidol (HAL) (10 nM) induced an increase in MDA level ( $n=4$ ;  $***p<0.001$ ), while amisulpride (AMI) (100 nM) did not induce significant changes ( $n=4$ ;  $p=0.94$ ). Pre-treatment with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid attenuated haloperidol-induced increase of MDA concentration ( $n=4$ ;  $***p<0.001$  for haloperidol and  $p=0.72$  for amisulpride compared to antipsychotic alone) and attenuated basal MDA level ( $n=4$ ;  $***p<0.001$  compared to control).

*Effects of antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid on protein carbonylation.*

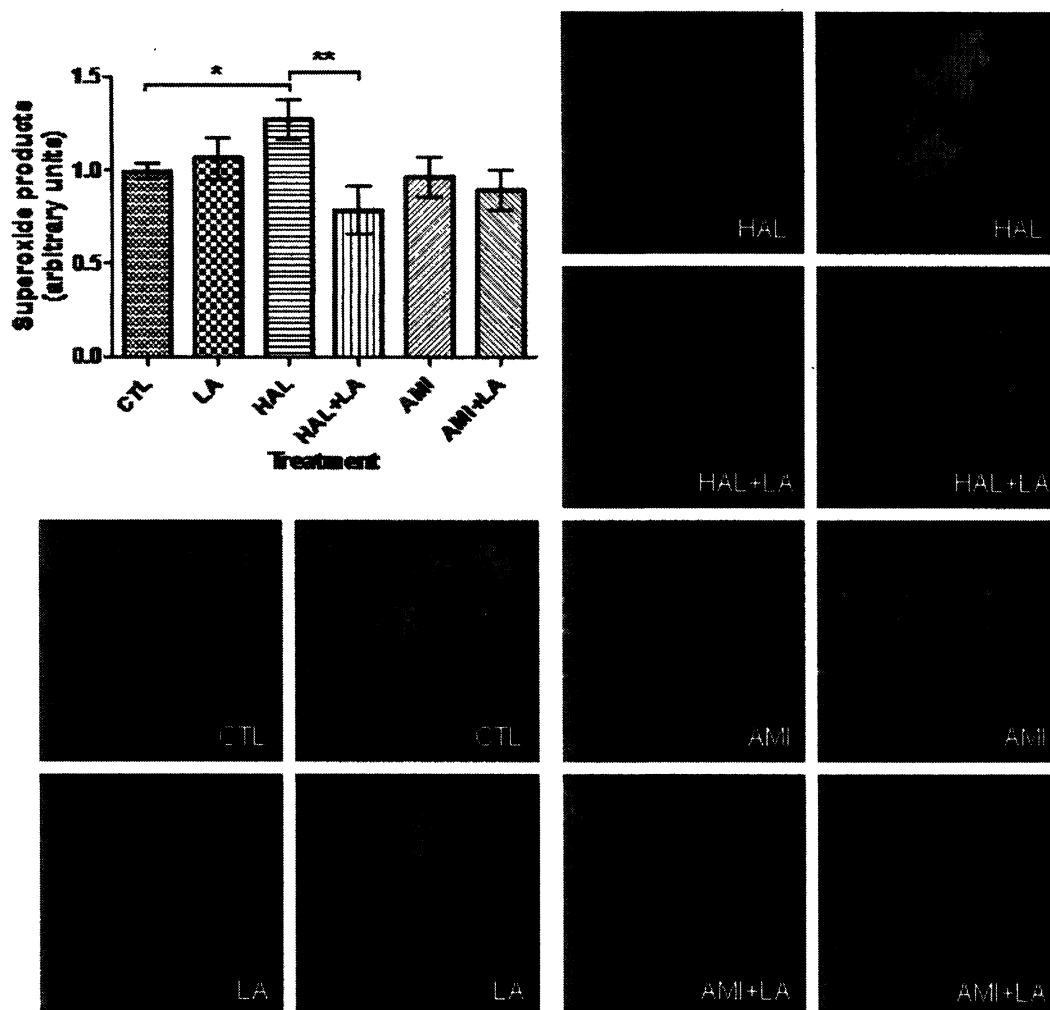
We also assessed the effects of antipsychotics on the changes in protein carbonylation process, a well-established biochemical perturbation resulting from oxidative stress. Prolonged treatment for 6 days with 10 nM haloperidol provoked a robust increase in protein carbonylation level in SH-SY5Y cells (+83%;  $p < 0.001$ ) (Fig. 7), while 100 nM amisulpride did not induce significant changes (+14%;  $p = 0.51$ ) (Fig. 7). In a second set of experiments, we further determined whether ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid-induced attenuation of antipsychotic effects was also able to block the enhancement in protein carbonyl formation. Pre-treatment with 200  $\mu$ M ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid for 24 h before antipsychotic application attenuated haloperidol-induced accumulation of protein carbonylation (haloperidol + ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid: -42%;  $p < 0.01$  compared to haloperidol alone) (Fig. 7). Furthermore, pre-incubation with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid decreased the basal level of protein carbonylation observed in the presence of amisulpride (amisulpride + ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid: -80%;  $p = 0.12$ , compared to amisulpride alone) (Fig. 7).



**Fig. 7.** Western blot analysis of protein carbonyl groups. As compared with control (CTL), treatment for 6 days with haloperidol (HAL) (10 nM;  $n=8$ ; \*\*\* $p<0.001$ ) increased protein carbonyl groups, while amisulpride (AMI) (100 nM;  $n=5$ ;  $p=0.51$ ) had no effect. Pre-treatment for 24 h with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid (LA; 200  $\mu$ M) reversed antipsychotic effects ( $n=8$ ; \*\* $p<0.01$  for haloperidol and  $n=3$ ;  $p=0.12$  for amisulpride, compared to antipsychotic alone) and did not change basal protein carbonylation ( $n=5$ ;  $p=0.44$  compared to control). Treatment with 2,4-dinitrophenylhydrazine and probing with anti-dinitrophenyl-KLH rabbit antibody revealed protein carbonyl groups.

#### *Effects of antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid on superoxide anion production*

It is well known that free radicals and other oxygen species can oxidize proteins and lipids, leading to neuronal damage. We then examined the role of oxidative stress in antipsychotics- and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid actions on DRD2 expression, by determining superoxide anion production by fluorescence assay with dihydroethidium (DHE). Acute treatment for 3 h with 10 nM haloperidol increased red fluorescence intensity and therefore superoxide anion production (+28%;  $p<0.05$ ) (Fig. 8), while treatment with 100 nM amisulpride did not induce significant changes (-3%;  $p=0.79$ ) (Fig. 8). Pre-treatment for 24 h with 200  $\mu$ M ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid reversed haloperidol-induced increase of superoxide anion production (haloperidol + ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid: -38%;  $p<0.01$  compared to haloperidol alone) (Fig. 8).



**Fig. 8.** Fluorescence assay of superoxide production with dihydroethidium (DHE). DAPI stained nucleus in blue. Ethidium, the product of the oxidation of DHE by superoxide anion, produced a red fluorescence. As compared with control (CTL), treatment for 3 h with haloperidol (HAL; 10 nM) increased superoxide production ( $n=10$ ;  $*p<0.05$ ), while amisulpride (AMI; 100 nM) did not induce significant changes ( $n=8$ ;  $p=0.79$ ). Pre-treatment for 24 h with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid (LA; 200  $\mu$ M) did not affect the basal level of superoxide anion production ( $n=10$ ;  $p=0.55$  without antipsychotic) but was able to reverse antipsychotic-induced superoxide production ( $n=9$ ;  $**p<0.01$  for haloperidol and  $n=8$ ;  $p=0.64$  for amisulpride).

## Discussion

The results presented here are the first, to our knowledge, to provide evidence for a link between the two prominent theoretical mechanisms of tardive dyskinesia, namely oxidative stress and DRD2 up-regulation (Cadet, 1994; Pai et al., 1994; Schroder et al., 1998). We show that two distinct, relatively selective DRD2 antagonists, elicited different responses in DRD2 regulation. Haloperidol, a high potency FGA prone to increase oxidative stress, induced a robust increase in DRD2 expression (mRNA and protein levels). On the other hand, amisulpride, a SGA with no significant effect on oxidative status, produced no significant effect on DRD2 mRNA expression and on DRD2 protein levels after 6 days. This DRD2 up-regulation was unlikely related to toxicity or apoptosis, since antipsychotic treatment did not influence cell viability and protein levels of Bcl-2, a key regulator of programmed cell death and apoptosis. To our knowledge, this is the first report of *in vitro* modulation of endogenous DRD2 levels by antipsychotics and the first demonstration that the differential effect of FGAs and SGAs can be replicated in a cellular model of human origin. We also showed a significant correlation between early (3 h incubation) increase of DRD2 mRNA and subsequent (6 days incubation) protein levels. Thus, acute DRD2 transcriptional activation appears to be a significant predictor of later DRD2 protein levels.

The DRD2 up-regulation by antipsychotic drugs could be partially replicated with alpha-methyl-DL-tyrosine (AMPT), an inhibitor of tyrosine hydroxylase (TH). TH catalyzes the rate-limiting step in the biosynthesis of catecholamines (Kumer and Vrana, 1996). The facts that AMPT increased DRD2 expression and prevented antipsychotics-induced DRD2 up-regulation suggest that the antipsychotic-induced effect is regulated in an auto/paracrine manner by endogenous catecholamines (Odagaki et al., 1995; Shaul et al., 2003), which to some extent mimics *in vivo* findings (Ghisi et al., 2009). At the present time, we do not know whether other pharmacological effects of haloperidol (e.g. sigma receptors modulation) or of amisulpride (e.g. DRD3 inhibition) contribute to the regulation of catecholamine metabolism. Taken together, our results suggest that endogenous catecholamines control the level of DRD2 expression in SH-SY5Y cells and that disruption



of catecholamine synthesis (by AMPT) or antagonism of their effect on D2 receptors (by antipsychotics) induces a compensatory overexpression of the dopamine D2 receptor.

We also investigated the effects of ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid on DRD2 expression in human SH-SY5Y cells to ascertain the contribution of oxidative status to DRD2 expression in this model. Lipoic acid is a compound found naturally in plants and animals and is an essential cofactor for pyruvate dehydrogenase and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase in mitochondria (Packer et al., 1997). It has been reported that ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid has antioxidant properties, by scavenging reactive oxygen species (ROS) and by modulating cell signaling networks that regulate endogenous antioxidant potential, and is effective for prevention of oxidative stress (Packer and Tritschler, 1996; Petersen Shay et al., 2008). ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid treatment by itself decreased DRD2 expression, which suggests that basal oxidative conditions of cell culture (Halliwell, 2003; Leist et al., 1996) tonically increase DRD2 levels. This is consistent with the idea that a physiological level of ROS is required for the proper regulation of cell function. Moreover, ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid reversed the effects of haloperidol on DRD2 mRNA and protein levels, suggesting (1) that normalization of oxidative status is sufficient to counteract the haloperidol-induced DRD2 up-regulation and (2) that some early events triggered by APs are influenced by the oxidative status of the cell (even in the absence of additive oxidative stress, as witnessed for amisulpride).

We next wanted to document directly the effect of antipsychotic drugs and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid on different oxidative parameters in our cell system. On the basis of the recent results of Sedlak *et al.* (Sedlak et al., 2009), we chose to investigate lipid peroxidation and protein carbonylation, which are indicators of lipid and aqueous phase oxidative disturbances, respectively. Lipid peroxidation was assessed through malondialdehyde (MDA) levels measured with the 1-methyl-2-phenylindole (1M2P) assay (Esterbauer and Cheeseman, 1990). Indeed, treatment for 3 h with haloperidol, but not amisulpride, induced a robust increase of lipid peroxidation, which was again fully reversed by ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid. A similar trend was observed with antipsychotic treatment for 6 days. This result suggests that oxidative stress is persistent with long-term treatment with haloperidol. Treatment with ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid alone induced a decrease of lipid peroxidation, which

confirms the existence of some basal oxidative stress under standard cell culture conditions (Sedlak et al., 2009; Stardtman, 1990). Very similar results were obtained regarding the carbonylation of amino acid residues. Taken together, these results confirm that haloperidol, at a clinically relevant concentration, elicits a very significant increase in oxidative parameters (effect sizes of 5.0 and 4.4 SDs over controls, respectively, for MDA level and protein carbonylation). In a similar fashion, the monitoring of ethidium fluorescence confirmed a direct increase of superoxide anion production in the presence of haloperidol and its reversal by ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid. This is in agreement with the known effects of haloperidol on mitochondrial complex I (Balijepalli et al., 2001). Superoxide anion is a highly reactive oxygen species (ROS), which plays a crucial role in mechanisms in neurodegenerative diseases (Beal, 1995). In the metabolic pathway of free radicals, superoxide anion is metabolized, by superoxide dismutases, to hydrogen peroxide, which forms hydroxyl radicals and then causes oxidative stress if it is not decomposed to water and oxygen by glutathione peroxidase and catalase (Yao et al., 1998). DRD2 overexpression, a prominent property of FGAs, can be replicated *in vitro*, parallels the effect of APs on oxidative status, and can be prevented by ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid. It has been reported that alpha-lipoic acid supplementation decreased haloperidol-induced tardive dyskinesia and oxidative stress in rats (Thaakur and Himabindhu, 2009), which supports the potential clinical relevance of our findings. ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid has a potential therapeutic use for prevention and treatment of FGAs-induced extrapyramidal symptoms like tardive dyskinesia. In fact, it has been determined that lipoic acid is effective in both prevention and treatment of several neurological disorders because of its capacity to cross the blood-brain barrier and accumulate in brain and that it constitutes an promising treatment for neurodegenerative diseases implicating oxidative stress (Packer et al., 1995).

Further work will be necessary to understand the underlying mechanisms of antipsychotic-induced DRD2 up-regulation and oxidative stress. It has been reported that DRD2 expression is negatively controlled by dopamine receptor regulating factor (DRRF or KLF16) (Lee et al., 2003) and positively controlled by transcription factors specificity protein 1 (Sp1) and activator protein 1 (AP-1) (Wang et al., 1997). It has been demonstrated that nuclear factor kappa B (NF $\kappa$ B) has a direct role in DRD2 up-regulation

by nerve growth factor (NGF) on prolactinomas (Bontempi et al., 2007; Fiorentini et al., 2002). Also, it has been reported that Sp1, AP-1 and NFkB are activated by oxidative stress (Aggeli et al., 2006; Rojo et al., 2004; Ryu et al., 2003). Then, it will be interesting to study, using the same antipsychotics and ( $\pm$ )- $\alpha$ -Lipoic acid, the possible role of these transcription factors in the relation between antipsychotics-induced DRD2 up-regulation and oxidative stress.

**Acknowledgments**

This work was supported by a grant from Novartis Pharma Canada to the Department of Psychiatry, Université de Sherbrooke, and by the Centre des Neurosciences de Sherbrooke. Philippe Sarret, PhD is a CIHR new investigator. Philippe Sarret, PhD and Sylvain Grignon, MD, PhD are members of the FRSQ-funded Centre de Recherche Clinique Étienne Lebel. The authors also thank the Institut de pharmacologie de Sherbrooke for using of Quantity One software.

## References

- Aggeli IK, Gaitanaki C, Beis I. 2006. Involvement of JNKs and p38-MAPK/MSK1 pathways in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced upregulation of heme oxygenase-1 mRNA in H9c2 cells. *Cell Signal* 18(10):1801-1812.
- Agostinho FR, Jornada LK, Schroder N, Roesler R, Dal-Pizzol F, Quevedo J. 2007. Effects of chronic haloperidol and/or clozapine on oxidative stress parameters in rat brain. *Neurochem Res* 32(8):1343-1350.
- Balijepalli S, Kenchappa RS, Boyd MR, Ravindranath V. 2001. Protein thiol oxidation by haloperidol results in inhibition of mitochondrial complex I in brain regions: comparison with atypical antipsychotics. *Neurochem Int* 38(5):425-435.
- Beal MF. 1995. Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* 38(3):357-366.
- Behl C, Rupprecht R, Skutella T, Holsboer F. 1995. Haloperidol-induced cell death—mechanism and protection with vitamin E in vitro. *Neuroreport* 7(1):360-364.
- Bernard V, Le Moine C, Bloch B. 1991. Striatal neurons express increased level of dopamine D2 receptor mRNA in response to haloperidol treatment: a quantitative in situ hybridization study. *Neuroscience* 45(1):117-126.
- Bontempi S, Fiorentini C, Busi C, Guerra N, Spano P, Missale C. 2007. Identification and characterization of two nuclear factor-kappaB sites in the regulatory region of the dopamine D2 receptor. *Endocrinology* 148(5):2563-2570.
- Brown K, Reid A, White T, Henderson T, Hukin S, Johnstone C, Glen A. 1998. Vitamin E, lipids, and lipid peroxidation products in tardive dyskinesia. *Biol Psychiatry* 43(12):863-867.
- Cadet JL. 1994. Free radicals and neurodegeneration. *Trends Neurosci* 17(5):192-194.
- Cadet JL, Lohr JB. 1989. Possible involvement of free radicals in neuroleptic-induced movement disorders. Evidence from treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 570:176-185.
- Dakhale G, Khanzode S, Khanzode S, Saoji A, Khobragade L, Turankar A. 2004. Oxidative damage and schizophrenia: the potential benefit by atypical antipsychotics. *Neuropsychobiology* 49(4):205-209.
- Esterbauer H, Cheeseman KH. 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 186:407-421.
- Fachinetto R, Burger ME, Wagner C, Wondracek DC, Brito VB, Nogueira CW, Ferreira J, Rocha JB. 2005. High fat diet increases the incidence of orofacial dyskinesia and oxidative stress in specific brain regions of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 81(3):585-592.
- Fiorentini C, Guerra N, Facchetti M, Finardi A, Tiberio L, Schiaffonati L, Spano P, Missale C. 2002. Nerve growth factor regulates dopamine D(2) receptor expression in prolactinoma cell lines via p75(NGFR)-mediated activation of nuclear factor-kappaB. *Mol Endocrinol* 16(2):353-366.
- Gerard-Monnier D, Erdelmeier I, Regnard K, Moze-Henry N, Yadan JC, Chaudiere J. 1998. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 11(10):1176-1183.
- Ghisi V, Ramsey AJ, Masri B, Gainetdinov RR, Caron MG, Salahpour A. 2009. Reduced D2-mediated signaling activity and trans-synaptic upregulation of D1 and D2

- dopamine receptors in mice overexpressing the dopamine transporter. *Cell Signal* 21(1):87-94.
- Grignon S, Levy N, Couraud F, Bruguerolle B. 1996. Tyrosine kinase inhibitors and cycloheximide inhibit Li<sup>+</sup> protection of cerebellar granule neurons switched to non-depolarizing medium. *Eur J Pharmacol* 315(1):111-114.
- Halliwell B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *Faseb J* 1(5):358-364.
- Halliwell B. 2003. Oxidative stress in cell culture: an under-appreciated problem? *FEBS Lett* 540(1-3):3-6.
- Jia Z, Hallur S, Zhu H, Li Y, Misra HP. 2008. Potent upregulation of glutathione and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 by alpha-lipoic acid in human neuroblastoma SH-SY5Y cells: protection against neurotoxicant-elicited cytotoxicity. *Neurochem Res* 33(5):790-800.
- Kapur S, Langlois X, Vinken P, Megens AA, De Coster R, Andrews JS. 2002. The differential effects of atypical antipsychotics on prolactin elevation are explained by their differential blood-brain disposition: a pharmacological analysis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 302(3):1129-1134.
- Kropp S, Kern V, Lange K, Degner D, Hajak G, Kornhuber J, Ruther E, Emrich HM, Schneider U, Bleich S. 2005. Oxidative stress during treatment with first- and second-generation antipsychotics. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 17(2):227-231.
- Kume T, Kawato Y, Osakada F, Izumi Y, Katsuki H, Nakagawa T, Kaneko S, Niidome T, Takada-Takatori Y, Akaike A. 2008. Dibutyl cyclic AMP induces differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cells into a noradrenergic phenotype. *Neurosci Lett* 443(3):199-203.
- Kumer SC, Vrana KE. 1996. Intricate regulation of tyrosine hydroxylase activity and gene expression. *J Neurochem* 67(2):443-462.
- Larouche A, Berube P, Sarret P, Grignon S. 2008. Subacute H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, but not poly(IC), upregulates dopamine D<sub>2</sub> receptors in retinoic acid differentiated SH-SY5Y neuroblastoma. *Synapse* 62(1):70-73.
- Lee SH, Kim YM, Yajima S, Ha JM, Ha BJ, Kim OS, Oshawa K, Mouradian MM. 2003. Genomic organization and promoter characterization of the murine dopamine receptor regulating factor (DRRF) gene. *Gene* 304:193-199.
- Leist M, Raab B, Maurer S, Rosick U, Brigelius-Flohe R. 1996. Conventional cell culture media do not adequately supply cells with antioxidants and thus facilitate peroxide-induced cytotoxicity. *Free Radic Biol Med* 21(3):297-306.
- Lohr JB, Kuczenski R, Bracha HS, Moir M, Jeste DV. 1990. Increased indices of free radical activity in the cerebrospinal fluid of patients with tardive dyskinesia. *Biol Psychiatry* 28(6):535-539.
- Marchese G, Bartholini F, Ruiu S, Casti P, Saba P, Gessa G, Pani L. 2002. Effect of the amisulpride isomers on rat catalepsy. *Eur J Pharmacol* 444(1-2):69-74.
- Molina-Jimenez MF, Sanchez-Reus MI, Andres D, Cascales M, Benedi J. 2004. Neuroprotective effect of fraxetin and myricetin against rotenone-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *Brain Res* 1009(1-2):9-16.
- Morgenstern H, Glazer WM. 1993. Identifying risk factors for tardive dyskinesia among long-term outpatients maintained with neuroleptic medications. Results of the Yale Tardive Dyskinesia Study. *Arch Gen Psychiatry* 50(9):723-733.

- Muller MJ, Regenbogen B, Hartter S, Eich FX, Hiemke C. 2007. Therapeutic drug monitoring for optimizing amisulpride therapy in patients with schizophrenia. *K Psychiatr Res* 41(8):673-679.
- Odagaki Y, Dasgupta S, Fuxe K. 1995. Additivity and non-additivity between dopamine-, norepinephrine-, carbachol- and BABA-stimulated GTPase activity. *Eur J Pharmacol* 291(3):245-253.
- Packer L, Roy S, Sen CK. 1997. Alpha-lipoic acid: a metabolic antioxidant and potential redox modulator of transcription. *Adv Pharmacol* 38:79-101.
- Packer L, Tritschler HJ. 1996. Alpha-lipoic acid: the metabolic antioxidant. *Free Radic Biol Med* 20(4):625-626.
- Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. 1995. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 19(2):227-250.
- Pai BN, Janakiramaiah N, Gangadhar BN, Ravindranath V. 1994. Depletion of glutathione and enhanced lipid peroxidation in the CSF of acute psychotics following haloperidol administration. *Biol Psychiatry* 36(7):489-491.
- Paulson GW. 2005. Historical comments on tardive dyskinesia: a neurologist's perspective. *J Clin Psychiatry* 66(2):260-264.
- Petersen Shay K, Moreau RF, Smith EJ, Hagen TM. 2008. Is alpha-lipoic acid a scavenger of reactive oxygen species in vivo? Evidence for its initiation of stress signaling pathways that promote endogenous antioxidant capacity. *IUBMB Life* 60(6):362-367.
- Pillai A, Parikh V, Terry AV, Jr., Mahalik SP. 2007. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. *J Psychiatr Res* 41(5):372-386.
- Robinson CE, Keshavarzian A, Pasco DS, Frommel TO, Winship DH, Holmes EW. 1999. Determination of protein carbonyl groups by immunoblotting. *Anal Biochem* 266(1):48-57.
- Rajo AI, Salinas M, Martin D, Perona R, Cuadrado A. 2004. Regulation of Cu/Zn-superoxide dismutase expression via the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway and nuclear factor-kappaB. *J Neurosci* 24(33):7324-7334.
- Ryu H, Lee J, Zaman K, Kubilis J, Ferrante RJ, Ross BD, Neve R, Ratan RR. 2003. Sp1 and Sp3 are oxidative stress-inducible, anti-death transcription factors in cortical neurons. *J Neurosci* 23(9):3597-3606.
- Sagara Y. 1998. Induction of reactive oxygen species in neurons by haloperidol. *J Neurochem* 71(3):1002-1012.
- Schroder J, Silvestri S, Bubeck B, Karr M, Demisch S, Scherrer S, Geider FJ, Sauer H. 1998. D2 dopamine receptor up-regulation, treatment response, neurological soft signs and extrapyramidal side effects in schizophrenia: a follow-up study with 123I-iodobenzamide single photon emission computed tomography in the drug-naïve state and after neuroleptic treatment. *Biol Psychiatry* 43(9):660-665.
- Sedlak TW, Saleh M, Higginson DS, Paul BD, Juluri KR, Snyder SH. 2009. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(13):5171-5176.
- Shaul U, Ben-Shachar D, Karry R, Klein E. 2003. Modulation of frequency and duration of repetitive magnetic stimulation affects catecholamine levels and tyrosine

- hydroxylase activity in human neuroblastoma cells: implication for the antidepressant effect of r TMS. *Int J Neuropsychopharmacol* 6(3):233-241.
- Shivakumar BR, Ravindranath V. 1993. Oxidative stress and thiol modification induced by chronic administration of haloperidol. *J Pharmacol Exp Ther* 265(3):1137-1141.
- Silvestri S, Seeman MV, Negrete JC, Joule S, Shammi CM, Remington GJ, Kapur S, Zipursky RB, Wilson AA, Christensen BK, Seeman P. 2000. Increased dopamine D2 receptor binding after long-term treatment with antipsychotics in human: a clinical PET study. *Psychopharmacology (Berl)* 152(2):174-180.
- Soares KV, McGrath JJ. 1999. The treatment of tardive dyskinesia—a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res* 39(1):1-16; discussion 17-18.
- Stadtman ER. 1990. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 9(4):315-325.
- Tenback D, van Harten P, Slooff C, van Os J. 2009. Incidence and persistence of tardive dyskinesia and extrapyramidal symptoms in schizophrenia. *J Psychopharmacol*.
- Thaakur S, Himabindhu G. 2009. Effect of alpha lipoic acid on the tardive dyskinesia and oxidative stress induced by haloperidol in rats. *J Neural Transm* 116(7):807-814.
- Tsai G, Goff DC, Chang RW, Flood J, Baer L, Coyle JT. 1998. Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 155(9):1207-1213.
- Wang J, Miller JC, Friedhoff AJ. 1997. Differential regulation of D2 receptor gene expression by transcription factor AP-1 in cultured cells. *J Neurosci Res* 50(1):23-31.
- Yao JK, Reddy R, McElhinny LG, van Kammen DP. 1998. Effects of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia. *J psychiatr res* 32(6):385-391.



## 5. Discussion

### 5.1. Le modèle *in vitro* à l'étude

#### 5.1.1. Le choix du modèle cellulaire

Le modèle *in vitro*, utilisé dans le présent projet, est la lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y. Ces cellules ont des propriétés neuronales de phénotype catécholaminergique, comme le transport de la DA et de la noradrénaline, l'expression des enzymes catalysant la synthèse et le métabolisme de la DA et de l'acétylcholine et l'expression des récepteurs dopaminergiques et cholinergiques (Biedler *et al.*, 1978; Willets *et al.*, 1995). De plus, ces cellules sont sensibles au stress oxydatif (Amoroso *et al.*, 1999; Uberti *et al.*, 2002).

#### 5.1.2. Le choix des molécules antipsychotiques

L'halopéridol a été choisi comme APG, puisqu'il s'agit d'un traitement de référence lors d'un diagnostic de schizophrénie. L'amisulpride a été sélectionné comme ASG, étant donné que cette molécule a un profil pharmacologique similaire à l'halopéridol, c'est-à-dire la propriété d'antagonisme du récepteur DRD2, en l'absence d'antagonisme significatif du récepteur 5HT2A. Les concentrations utilisées d'APs sont cliniquement pertinentes (Kapur *et al.*, 2002; Marchese *et al.*, 2002; Muller *et al.*, 2007) et ne sont pas cytotoxiques (Vilner *et al.*, 1995).

#### 5.1.3. Le choix de l'antioxydant

L'acide lipoïque a été choisi comme molécule antioxydante pour l'étude de l'implication du stress oxydatif dans la régulation du récepteur DRD2.

Le GSH est un antioxydant majeur du système cellulaire et est nécessaire pour maintenir l'équilibre du statut redox. Le GSH est synthétisé par une réaction impliquant les enzymes  $\gamma$ -glutamyl cystéine ligase ( $\gamma$ -GCL) (E.C.6.3.2.2.), qui catalyse l'étape limitante, et glutathion synthétase (E.C.6.3.2.3.). La diminution du niveau de GSH, qui caractérise le stress oxydatif, suit la perte de groupes thiols (PrSH) libres dans les protéines (Ravindranath et Reed, 1990) et il a été démontré que la déplétion de GSH précède l'inhibition de l'activité du complexe I mitochondrial (Jenner, 1993). Ainsi, il a été suggéré que les substances pouvant augmenter le niveau de GSH peuvent protéger contre les maladies médiées par le stress oxydatif (Mariani *et al.*, 2005; Schulz *et al.*, 2000). Le GSH lui-même ne traverse pas bien la barrière hémato-encéphalique et ne peut être administré de manière exogène. Les GSH esters, quant à eux, sont bien absorbés, mais n'augmentent que les niveaux rénal, hépatique et cardiaque de GSH, et non le niveau cérébral de GSH. En fait, sur un modèle d'ischémie cérébrale de rat (Panigrahi *et al.*, 1996), le traitement avec le GSH isopropyl ester n'augmente pas le niveau cérébral de GSH.

La fonction de chélateur d'ions, pour freiner la réaction de Fenton (1) qui produit des radicaux hydroxyl, est importante, étant donné qu'il a été rapporté que des antioxydants non-chélateurs, comme les flavonoïdes (Laughton *et al.*, 1989), peuvent réduire le fer et ainsi exacerber les réactions ion-dépendantes. Ceci suggère que le meilleur antioxydant doit posséder les propriétés de « scavenger » de ROS et de chélateur d'ions.

#### 5.1.3.1. La vitamine E

La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) exerce son action antioxydante via le mécanisme de « scavenger » des radicaux libres (Traber et Atkinson, 2007). La vitamine E atténue partiellement le développement de l'hypersensibilité dopaminergique induite par l'halopéridol (Gattaz *et al.*, 1993). Bien que plusieurs études *in vivo* démontrent l'efficacité de la co-administration de la vitamine E avec l'halopéridol pour le traitement de la dyskinésie tardive (Lohr et Caligiuri, 1996), ce traitement connaît cliniquement un succès limité (Elkashaf *et al.*, 1990). En effet, la vitamine E est un antioxydant puissant, mais ne peut pas délivrer les équivalents thiols pour compenser la perte des groupes thiols et donc

normaliser le niveau de GSH. De plus, il a été rapporté que la vitamine E est pro-oxydante (Dyatlov *et al.*, 1998; Lai et Yu, 1997) et peut être même létale à de fortes concentrations (Miller *et al.*, 2005).

#### 5.1.3.2. La N-acétylcystéine

La N-acétylcystéine (NAC), administrée oralement, est bien absorbée et traverse la barrière hémato-encéphalique (Borgstrom *et al.*, 1986). La NAC améliore le stress oxydatif, induit par l'halopéridol, chez le rat (Harvey *et al.*, 2008). En fait, la NAC augmente le niveau de GSH en stimulant sa formation à partir de la cystéine, le précurseur de l'étape limitante de la synthèse de GSH (Atkuri *et al.*, 2007), et protège donc le cerveau contre la déplétion de GSH (Aydin *et al.*, 2002; Fu *et al.*, 2006; Kamboj *et al.*, 2006). Une étude *in vivo* (Harvey *et al.*, 2008) démontre que l'augmentation de la production d'anion superoxyde et de la peroxydation lipidique, induite par l'halopéridol, est prévenue par le traitement avec la NAC. Cependant, la même étude démontre que la NAC augmente les niveaux d'anion superoxyde à haute concentration, ce qui concorde avec d'autres études qui confirment des propriétés pro-oxydantes de la NAC (Wang *et al.*, 2006). De plus, l'administration de NAC est associée à des effets secondaires comme les nausées, les vomissements et la diarrhée (Flanagan et Meredith, 1991).

#### 5.1.3.3. L'acide lipoïque

L'acide lipoïque est un composé naturel retrouvé dans les mitochondries des plantes et des animaux, où il joue le rôle de cofacteur de l'enzyme  $\alpha$ -kéto-acide-déhydrogénase de la chaîne de transport d'électrons (Bunik *et al.*, 1990; Zimmer *et al.*, 1991) et est impliqué dans le métabolisme de l'énergie. Cependant, l'acide lipoïque, administré de manière exogène, a d'autres activités biochimiques que sa fonction métabolique normale (Petersen Shay *et al.*, 2008).

#### 5.1.3.3.1. Les propriétés antioxydantes de l'acide lipoïque

L'acide lipoïque, lorsqu'il est administré, est réduit en dihydrolipoate (DHLA), une réaction catalysée par l'enzyme dihydrolipoamide (LAD). L'acide lipoïque et le DHLA agissent via le mécanisme de « scavenger » des ROS (voir le tableau 2).

Radical libre	Acide lipoïque	Dihydrolipoate
Radical hydroxyl	+	+
Peroxyde d'hydrogène	+	+
Anion superoxyde	-	+

Tableau 2. Les radicaux libres pouvant être récupérés (+) par l'acide lipoïque et le dihydrolipoate.

L'acide lipoïque augmente le niveau intracellulaire de GSH en induisant la transcription des sous-unités catalytique et régulateur de l'enzyme  $\gamma$ -GCL, qui catalyse l'étape limitante de la synthèse de GSH (Petersen Shay *et al.*, 2008). Alors que le traitement au GSH isopropyl ester n'augmente pas le niveau de GSH sur un modèle d'ischémie cérébral de rat, l'acide lipoïque abolit la perte de GSH, dans le cortex, le striatum et l'hippocampe, et diminue la peroxydation lipidique (Panigrahi *et al.*, 1996). De plus, cet antioxydant est un modificateur des protéines thiolates (PrSH) et peut influencer les cascades sensibles à l'état redox des groupes thiols (Nakashima *et al.*, 2002). Étant donné que l'enzyme du complexe I mitochondrial, la NADH déshydrogénase, est régulée par les groupes thiols (Jha *et al.*, 2000), l'acide lipoïque peut donc normaliser la fonction mitochondriale. Cette molécule est donc un antioxydant thiol efficace (Han *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 1994). Cet antioxydant peut aussi chélater les ions ferreux, freinant ainsi l'initiation de la réaction de Fenton (1), qui produit le radical hydroxyl.

#### 5.1.3.3.2. Les effets bénéfiques connus de l'acide lipoïque

L'acide lipoïque est bien toléré chez l'humain et l'animal et traverse la barrière hémato-encéphalique (Cremer *et al.*, 2006; Ziegler *et al.*, 2006). Il est connu que cette molécule, *in vivo*, améliore les déficits neuromusculaire, cognitif et cardiaque reliés au diabète (Foster,

2007; Holmquist *et al.*, 2007; Milgram *et al.*, 2004). L'acide lipoïque est utilisé pour le traitement des neuropathies périphériques et cardiaques liées au diabète (Ziegler et Gries, 1997), de la cataracte (Maitra *et al.*, 1996), de la résistance à l'insuline reliée au diabète de type 2 (Jacob *et al.*, 1996), du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) (Packer *et al.*, 1995), des maladies cardiovasculaires (Matalon *et al.*, 1984) et de la maladie de Parkinson et autres maladies neurodégénératives (Bharat *et al.*, 2002; Bilska *et al.*, 2007; Packer *et al.*, 1997). Dans ces cas de traitement, l'acide lipoïque est très bien toléré, malgré l'apparition rare d'éruptions cutanées et de nausées sous fortes doses. Il est administré principalement par voies intraveineuse ou orale (Ziegler *et al.*, 2006). Cet antioxydant améliore aussi la mémoire chez les animaux âgés (Hagen *et al.*, 1999; Suh *et al.*, 2001).

## 5.2. L'étude comparative des APs sur l'expression du récepteur DRD2

Dans le cadre des expérimentations issues du projet de maîtrise, il a été démontré, sur un modèle cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y, le lien entre la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif, deux mécanismes associés au développement de la dyskinésie tardive. En effet, il a été démontré que l'halopéridol, un APG induisant le stress oxydatif, induit une surexpression du récepteur DRD2, alors que l'amisulpride, un ASG n'ayant pas de propriété pro-oxydante, n'a pas d'effet significatif sur le niveau d'expression du récepteur DRD2. Il s'agit, à ma connaissance, du premier modèle *in vitro* de modulation des niveaux endogènes du récepteur DRD2 par les APs et de modulation du niveau de stress oxydatif à des concentrations cliniquement pertinentes d'APs. Les résultats démontrés ici sur le récepteur DRD2 suggèrent certains points. Un traitement à court-terme avec l'halopéridol, un APG, antagonise les récepteurs DRD2 afin d'améliorer les symptômes schizophréniques, alors qu'un traitement chronique, reproduit ici sur le modèle cellulaire, induit une surexpression du récepteur DRD2, ce qui est associé au développement de la dyskinésie tardive. Quant à l'amisulpride, un ASG, il n'induit pas d'effet sur le récepteur DRD2 à long-terme.

### 5.2.1. Le couplage à la protéine G

Il est possible que la surexpression du récepteur DRD2 observée suite au traitement à l'halopéridol ne nécessite pas le couplage à la protéine G (la protéine  $G_{i/o}$ , dans le cas du récepteur DRD2). Cependant, il a été rapporté qu'un antagoniste, comme l'halopéridol dans ce cas-ci, n'induit pas de couplage du récepteur à la protéine G. Le récepteur DRD2 couple la protéine  $G_{i/o}$  sensible à la PTX (de l'anglais *pertussis toxin*) et l'inactivation de la protéine G, par la PTX, prévient la modulation des seconds messagers par le récepteur DRD2 (Vallar et Meldolesi, 1989). Par contre, il a été suggéré, sur des cellules gliales transfectées, que l'interaction des protéines G, sensibles à la PTX, n'est pas nécessaire à la surexpression du récepteur DRD2 (Starr *et al.*, 1995). Cette hypothèse concorde avec des résultats, non-présentés ici, du projet de maîtrise, qui démontrent qu'un pré-traitement des cellules SH-SY5Y avec la PTX ne prévient pas la surexpression du récepteur DRD2 induite par l'halopéridol. Ceci suggère donc l'implication des cascades insensibles à la PTX dans ce phénomène.

### 5.2.2. Le récepteur sigma, un autre site de liaison de l'halopéridol

L'effet de l'halopéridol pourrait aussi dépendre de sa liaison au récepteur sigma ( $\sigma$ ), un récepteur intracellulaire qui se retrouve abondant au niveau du striatum (Iyengar *et al.*, 1990). En effet, l'halopéridol a une grande affinité pour le récepteur  $\sigma$  (McCann et Su, 1990) et diminue le niveau d'expression de ce récepteur *in vivo* (Itzhak et Alerhand, 1989; Itzhak et Stein, 1991). D'ailleurs, il a été démontré une implication du récepteur  $\sigma$  dans les désordres neuropsychiatriques (Inoue *et al.*, 2000) et une altération de la liaison de ce récepteur chez les schizophrènes (Helmeste *et al.*, 1996; Shibuya *et al.*, 1992; Weissman *et al.*, 1991). De plus, les ligands  $\sigma$  interagissent avec le système dopaminergique (Debonnel et de Montigny, 1996; Walker *et al.*, 1990; Zhang *et al.*, 1993) et provoquent, comme l'halopéridol, la dyskinésie tardive *in vivo* (Inoue *et al.*, 2000). Puisque les neuroblastomes humain SH-SY5Y expriment le récepteur  $\sigma$  (Ault et Werling, 2000), il serait intéressant de vérifier l'expression de ce récepteur sur le modèle *in vitro* présenté ici.

### 5.2.3. L'influence des catécholamines sur l'expression du récepteur DRD2

Étant donné qu'il a été rapporté que les neuroblastomes humains SH-SY5Y ont la capacité à synthétiser la DA et la noradrénaline (Willems *et al.*, 1993), l'influence de la concentration endogène de catécholamines (c'est-à-dire les catécholamines synthétisées par les neuroblastomes SH-SY5Y eux-mêmes) sur la régulation du niveau d'expression du récepteur DRD2 a été étudiée dans ce projet. La diminution de la synthèse de catécholamines a été provoquée en traitant les cellules avec l'alpha-méthyl-para-tyrosine (AMPT), un inhibiteur de la TH, l'enzyme limitante de la synthèse des catécholamines. Il a été démontré que le traitement à l'AMPT induit une surexpression du récepteur DRD2, ce qui suggère que le niveau du récepteur DRD2 est régulé d'une manière tonique, autocrine ou paracrine, par la DA endogène. Les résultats décrits ici concordent avec une étude *in vivo* (Ghisi *et al.*, 2009), qui démontre que les souris surexprimant le transporteur de la DA (DAT) (DAT-tg) montrent une surexpression du récepteur DRD2, contrairement aux souris n'exprimant pas le DAT (DAT-KO). Puisque le DAT recapture la DA libérée dans les neurones pré-synaptiques (Sotnikova *et al.*, 2006), une souris surexprimant ce transporteur reproduit le même système hypodopaminergique que des cellules traitées avec l'AMPT, c'est-à-dire subissant une diminution de la concentration de DA extracellulaire. L'augmentation de l'expression du récepteur DRD2 est suivie d'une augmentation du couplage du récepteur aux protéines  $G_{i/o}$ , ce qui suggère que l'activité intrinsèque est préservée. Il aurait été intéressant d'étudier le couplage du récepteur DRD2 aux protéines  $G_{i/o}$ , suite au traitement à l'halopéridol.

### 5.2.4. L'influence des niveaux de dopamine sur l'action des antipsychotiques

De plus, il a été démontré, au cours de mon projet, qu'un pré-traitement à l'AMPT prévient la surexpression du récepteur DRD2 induite par les APs, ce qui suggère l'importance du niveau endogène de DA (synthétisée par les neuroblastomes SH-SY5Y eux-mêmes) pour la régulation du niveau d'expression du récepteur DRD2 par les APs. D'ailleurs il a été rapporté que l'halopéridol augmente la phosphorylation et l'activité de la TH et stimule donc la synthèse de DA via le bloc du récepteur DRD2. L'augmentation de l'activité par

l'halopéridol est abolie chez la souris n'exprimant pas le récepteur DRD2 (D2-KO), ce qui suggère que le récepteur DRD2 est impliqué dans le contrôle de la DA pré-synaptique (Hakansson *et al.*, 2004).

### 5.3. L'étude de l'effet de l'acide lipoïque sur l'action des antipsychotiques

Dans le cadre du projet de maîtrise, il a été démontré que l'acide lipoïque diminue, à lui-seul, l'expression du récepteur DRD2, ce qui suggère que le statut oxydatif basal régule le niveau d'expression du récepteur DRD2 (Halliwell, 2003). De plus, Il a aussi été démontré que l'acide lipoïque renverse l'effet des APs sur la régulation du récepteur DRD2, ce qui suggère que la normalisation du statut oxydatif est suffisante pour contrecarrer l'augmentation de l'expression du récepteur DRD2 induite par l'halopéridol et que l'effet des APs est influencé par le statut oxydatif cellulaire.

#### 5.3.1. Le mécanisme d'action de l'acide lipoïque dans le modèle *in vitro*

Il a été rapporté, *in vitro*, que l'acide lipoïque restaure partiellement les anomalies dopaminergiques suite à un traitement au MPP<sup>+</sup>, le métabolite toxique de MPTP. Ainsi, l'acide lipoïque a un potentiel neuroprotecteur contre la toxicité de HP<sup>+</sup>, le métabolite toxique de l'halopéridol, puisque ce métabolite a une structure et une fonctionnalité similaires au MPP<sup>+</sup>. Il serait donc intéressant de vérifier l'action de HP<sup>+</sup> sur l'expression du récepteur DRD2 et des biomarqueurs de stress oxydatif et de vérifier l'effet neuroprotecteur de l'acide lipoïque. Ceci nous permettrait de déterminer si les effets observés avec l'halopéridol passent par sa métabolisation en HP<sup>+</sup>. De plus, il a été démontré que l'acide lipoïque augmente le niveau d'expression du récepteur NMDA (Stoll *et al.*, 1993; Stoll *et al.*, 1994; Tang et Aizenman, 1993), dont l'hypofonction est associé à la schizophrénie. Il serait intéressant d'étudier le potentiel neuroprotecteur de l'acide lipoïque via son action sur le récepteur NMDA. Enfin, il a été démontré que l'acide lipoïque augmente le niveau de GSH sur les neuroblastomes humains SH-SY5Y (Jia *et al.*, 2008): il serait donc intéressant de confirmer le rôle neuroprotecteur de l'acide lipoïque contre la perte de GSH, qui pourrait potentiellement être causé par le traitement à l'halopéridol.



#### 5.4. L'évaluation des biomarqueurs de stress oxydatif

L'implication directe du stress oxydatif dans l'effet des APs a été évaluée via la mesure de différents biomarqueurs de stress oxydatif. Il a été démontré que la peroxydation lipidique est augmentée via un traitement de 3 heures et de 6 jours à l'halopéridol, ce qui suggère le stress oxydatif est persistant, sur ce modèle cellulaire, avec un traitement à long-terme à l'halopéridol. De plus, la carbonylation des protéines est augmentée suite à 6 jours de traitement à l'halopéridol. Les résultats obtenus sur ces deux derniers biomarqueurs concordent avec une étude *in vivo* (Agostinho *et al.*, 2007), chez le rat, qui démontre qu'un traitement de 56 jours à l'halopéridol, contrairement à la clozapine, induit une forte augmentation de la peroxydation lipidique, dans l'hippocampe et dans le cortex, et une augmentation des groupes carbonyles, dans le cortex. Ensuite, durant mon projet, il a été démontré que l'halopéridol, à 3 heures de traitement, augmente la production d'anion superoxyde, un troisième biomarqueur de stress oxydatif. Ce résultat concorde avec une étude *in vivo* (Balijepalli *et al.*, 2001) qui rapporte que l'halopéridol, chez la souris, diminue l'activité du complexe I mitochondrial au niveau du cortex frontal, du striatum et du mésencéphale. Cette inhibition de l'activité du complexe mitochondriale peut expliquer l'augmentation de la production d'anion superoxyde par l'halopéridol, observée dans le cadre de ce projet, suite à une perturbation de la chaîne mitochondriale de transport d'électrons. Pour l'ensemble des biomarqueurs de stress oxydatif, il a été démontré, ici, que l'amisulpride n'a pas d'effet significatif. Ainsi, bien que l'amisulpride a un profil pharmacologique semblable à l'halopéridol, la surexpression du récepteur DRD2 retrouvée suite à un traitement chronique avec l'halopéridol serait attribuable à l'induction du stress oxydatif, que l'on ne retrouve pas suite au traitement avec l'amisulpride (voir la section 1.3.4.2.2.4. pour d'autres hypothèses qui seraient applicables dans un modèle *in vivo*). De plus, un pré-traitement à l'acide lipoïque des neuroblastomes humains SH-SY5Y prévient l'augmentation du stress oxydatif induite par l'halopéridol. Ce résultat concorde avec la même étude *in vivo* décrite antérieurement (Balijepalli *et al.*, 2001), qui rapporte que l'acide lipoïque prévient l'inhibition de l'activité du complexe I mitochondrial induite par l'halopéridol.

#### 5.4.1. Le métabolisme de l'acide arachidonique

Le métabolisme de l'acide arachidonique (AA) (20:4(n-6)) peut être une source de stress oxydatif. Ceci est basé sur l'hypothèse du métabolisme anormal des phospholipides membranaires chez les schizophrènes (Horrobin *et al.*, 1994). Plusieurs études (Fenton *et al.*, 2000; Ross, 2003) ont démontré que l'on retrouve, chez les schizophrènes, un métabolisme anormal des phospholipides membranaires et une diminution des EPUFAs, dont l'AA (Horrobin *et al.*, 1991), et donc une augmentation du métabolisme de l'AA (Yao *et al.*, 1992). Ce phénomène est associé à une augmentation de l'activité de la phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), qui catalyse le retrait des EPUFAs des phospholipides. Il a été démontré que l'augmentation de l'activité de PLA<sub>2</sub> est associée, *in vivo*, à la peroxydation lipidique. La génération des ROS à partir de l'AA peut provenir de sa métabolisation, catalysée par les enzymes 5-lipoxygénase (5-LOX), 12-lipoxygénase (12-LOX) et cyclo-oxygénase (COX), et de sa co-oxydation avec la xanthine oxydase (XO). La perte d'AA par la peroxydation lipidique amène une diminution de la synthèse des prostaglandines (PGs) (Deby-Dupont *et al.*, 1980), un phénomène démontré chez les schizophrènes (Rotrosen *et al.*, 1980). La perte d'AA est aussi associée à une hypofonction du récepteur GABAergique (Schwartz *et al.*, 1988), à une augmentation de la capture de DA et à une diminution de la capture de GABA (Rafalowska *et al.*, 1989) (voir la section 5.7.). Il est possible, et il serait intéressant, de mesurer l'oxydation enzymatique de l'AA via la détermination du niveau de tromboxane B<sub>2</sub> (TBX<sub>2</sub>) (Dietrich *et al.*, 2002).

#### 5.5. Le potentiel thérapeutique de l'acide lipoïque

L'acide lipoïque a ainsi un usage thérapeutique potentiel pour le traitement de la dyskinésie tardive. Une étude *in vivo* (Thaakur et Himabindhu, 2009) a rapporté des résultats prometteurs en ce qui concerne le potentiel thérapeutique de l'acide lipoïque. En effet, les auteurs ont rapporté une atténuation, par l'acide lipoïque, de l'augmentation des comportements hypermoteurs (VCMs, de l'anglais *vacuous chewing movements*) induite par un traitement chronique à l'halopéridol chez un modèle de dyskinésie tardive de rat. De plus, la même étude a rapporté une atténuation, par l'acide lipoïque, de la catalepsie,

caractérisée par une rigidité musculaire, et du déficit locomoteur induits par l'halopéridol. Le potentiel thérapeutique dans le traitement de la dyskinésie tardive serait à confirmer sur un modèle *in vivo* de schizophrénie traité chroniquement aux APs (voir la section 6.2.3.1.).

## 5.6. L'utilisation du modèle *in vitro* de neuroblastomes humains SH-SY5Y

### 5.6.1. Les avantages

Outre le fait que le modèle *in vitro* permettra d'identifier plus spécifiquement les mécanismes et les cascades de signalisation impliqués dans la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif induits par les APs, le modèle permet d'éviter les facteurs confondants que l'on retrouve dans la population schizophrène et qui peuvent influencer la réponse aux APs. Tout d'abord, chez les personnes âgées, les concentrations d'halopéridol réduits ( $HP^+$ ) sont plus élevées (Chang *et al.*, 1996), ce qui peut augmenter le risque de développer la dyskinésie tardive. De plus, il a été rapporté une augmentation d'abus d'alcool chez les schizophrènes (Gerding *et al.*, 1999; Regier *et al.*, 1990) et l'alcool augmente la formation des radicaux libres et diminue le niveau des enzymes antioxydantes SOD et GSH-Px (Schisler et Singh, 1989). Ensuite, la plupart des schizophrènes sont fumeurs (Lohr et Flynn, 1992) et on retrouve une augmentation du taux plasmatique de peroxydation lipidique chez les fumeurs, comparativement aux non-fumeurs. La fumée de cigarette contient des ROS, dont le  $H_2O_2$ , ce qui favorise le stress oxydatif.

### 5.6.2. Les limites

La principale lacune du modèle cellulaire présenté ici est qu'il ne s'agit pas d'une co-culture neuronale-astrocytaire et que les mécanismes étudiés ne tiennent pas compte des interactions entre les cellules neuronales et astrocytaires que l'on retrouve dans l'organisme animal. Plusieurs de ces interactions sont décrites ultérieurement. De plus, il a été rapporté que l'expression de l'enzyme SOD se retrouve surtout au niveau neuronal (Delacourte *et al.*, 1988), alors que celle de l'enzyme GSH-Px est observée principalement au niveau astrocytaire (Damier *et al.*, 1993). Ainsi, le GSH est plus abondant dans les cellules

astrocytaires (Benzi et Moretti, 1995), ce qui pourrait avoir une influence au niveau d'une co-culture neuronale-astrocytaire. De plus, contrairement au modèle *in vivo*, le modèle cellulaire présenté ne permet pas d'étudier les anomalies neurodéveloppementales reliées à l'hypothèse neurodéveloppementale de la schizophrénie (Weinberger, 1987). En fait, il a été démontré, chez les schizophrènes, une diminution du volume des régions extrastriales, c'est-à-dire le cortex cérébral et le thalamus (Konick et Friedman, 2001; Shenton *et al.*, 2001), et que ces anomalies corrélaient avec les dysfonctions neurocognitives (Antonova *et al.*, 2004). Il a également été démontré une perte neuronale chez les animaux traités chroniquement aux APs (Skoblenick *et al.*, 2006; Ukai *et al.*, 2004).

### 5.7. L'implication d'autres systèmes de neurotransmetteurs

Outre le système dopaminergique, d'autres systèmes de neurotransmission, comme le système glutamatergique (Goff et Coyle, 2001) et le système GABAergique (GABA; acide  $\gamma$ -aminobutyrique) (Lewis *et al.*, 2005), sont associés à la schizophrénie et au stress oxydatif. En fait, l'altération des systèmes non-dopaminergiques amène un déséquilibre fonctionnel de la DA via leur interaction avec la transmission dopaminergique et contribue aux symptômes négatifs et cognitifs de la schizophrénie (Meyer *et al.*, 2005).

#### 5.7.1. Le système glutamatergique

##### 5.7.1.1. Le système glutamatergique dans la schizophrénie

Il a été rapporté qu'une dysfonction de la neurotransmission glutamatergique perturbe l'équilibre DA-glutamate (Yao *et al.*, 2001). L'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie a été étudiée (Carlsson et Carlsson, 1990) et une augmentation de l'activité glutamatergique est associée au stress oxydatif et à la neurodégénération (Olney, 1990). Il a été rapporté que le stress oxydatif *in vivo*, via la diminution du niveau de GSH, amène une hypofonction du récepteur glutamatergique N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (Steullet *et al.*, 2006). D'ailleurs, l'hypofonction du récepteur NMDA contribue à la pathophysiologie de la schizophrénie (Coyle, 2006). En effet, l'administration de phencyclidine ou de kétamine,

des antagonistes au récepteur NMDA, reproduit les symptômes similaires à la schizophrénie chez des volontaires sains et exacerbe les symptômes chez les patients atteints de schizophrénie (Krystal *et al.*, 1994). De plus, les antagonistes du récepteur NMDA facilitent la libération de DA dans le striatum (Kegeles *et al.*, 2000; Miller et Abercrombie, 1996).

#### 5.7.1.2. Le système glutamatergique dans la dyskinésie tardive

Bien que la théorie stipulant le rôle causal de l'hypersensibilité du récepteur dopaminergique post-synaptique au niveau du striatum dans la dyskinésie tardive soit acceptée, une autre hypothèse propose aussi l'implication de la neurotransmission glutamatergique (Jenner *et al.*, 1986). En fait, les APs peuvent amener l'augmentation de la neurotransmission glutamatergique striatale, et donc la libération synaptique de glutamate, en bloquant l'autorécepteur pré-synaptique et en induisant le stress oxydatif (Tsai *et al.*, 1998). L'hyperactivité du glutamate, qui est le neurotransmetteur excitatoire majeur du SNC, induit une cytotoxicité via le stress oxydatif, comme il est observé avec l'hyperactivité dopaminergique. Cette cytotoxicité est spécifique aux neurones (Penugonda *et al.*, 2005). Plus précisément, le bloc des récepteurs DRD2 induit par les APs amène une augmentation de la libération synaptique de glutamate dans le striatum, activant ainsi les récepteurs ionotropiques glutamatergiques NMDA et non-NMDA, ce qui amène une dégénération neuronale médiée par le stress oxydatif. D'autre part, les ROS diminuent la capture présynaptique du glutamate, augmentant la concentration extracellulaire de glutamate (Coyle, 2006). La clozapine, un ASG, augmente le niveau de glutamate dans le cortex préfrontal sans affecter le niveau striatal (Daly et Moghaddam, 1993), ce qui peut expliquer la différence d'efficacité et d'incidence de dyskinésie tardive entre les deux classes d'APs.

#### 5.7.2. Le système GABAergique

Le développement de la dyskinésie tardive, chez les singes (Mitchell *et al.*, 2002), corrèle avec la perte cérébral de marqueurs GABAergiques, comme le niveau de l'enzyme acide glutamique décarboxylase (GAD, de l'anglais *glutamic acid decarboxylase*)

(E.C.4.1.1.15.), et on retrouve un phénomène similaire chez les patients atteints de dyskinésie tardive (Andersson *et al.*, 1989). En effet, chez les animaux traités aux APs, on observe une diminution du métabolisme de GABA et du niveau de la GAD, l'enzyme de l'étape limitante de la synthèse de GABA (Gerlach et Casey, 1988). Les APGs, comme l'halopéridol, diminuent le métabolisme de GABA, alors que les ASGs, comme la clozapine et l'olanzapine, augmentent le métabolisme de GABA (Thaker *et al.*, 1998), ce qui peut expliquer la différence d'incidence de dyskinésie tardive entre les deux classes d'APs.

### 5.7.3. L'étude des systèmes non-dopaminergiques

Les cellules de neuroblastomes humains SH-SY5Y, utilisées dans le cadre de ce projet, expriment le récepteur NMDA (Nair *et al.*, 1996). Il serait donc intéressant d'étudier la modulation de ce récepteur en lien avec l'action de l'halopéridol sur l'expression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif. L'expression des récepteurs GABA (GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub>) sur les neuroblastomes humains SH-SY5Y n'est pas décrite, mais il est possible de vérifier leur expression et, dans le cas qu'ils sont exprimés dans le modèle *in vitro* décrit ici, d'étudier la modulation de ces récepteurs par l'action de l'halopéridol.

## 6. Conclusion et perspectives

### 6.1. Conclusion

En conclusion, le modèle *in vitro* de neuroblastomes humains SH-SY5Y a permis de démontrer le lien entre la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif, deux phénomènes induits par l'halopéridol, un APG associé à un grand risque de développement de la dyskinésie tardive. Aussi, il a été démontré que l'acide lipoïque, un antioxydant, prévient les effets de l'halopéridol (voir la figure 13).

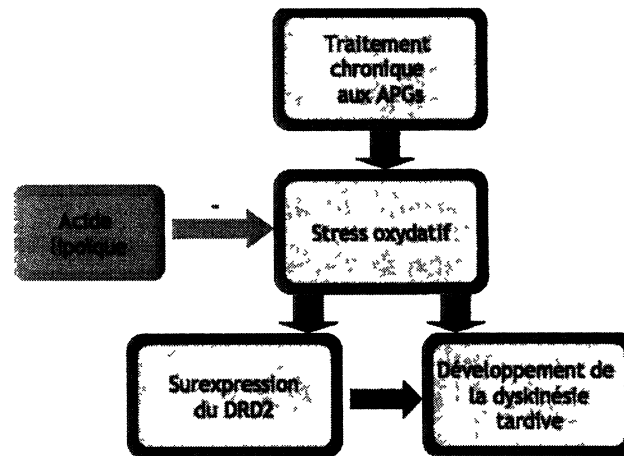


Figure 13. Schéma récapitulatif du projet de recherche. Il a été démontré que le traitement chronique aux antipsychotiques de première génération (APGs), comme l'halopéridol, est associé au stress oxydatif, qui, à son tour, amène la surexpression du récepteur dopaminergique de type 2 (DRD2). Ces phénomènes sont reliés au développement de la dyskinésie tardive. L'acide lipoïque diminue le stress oxydatif et la surexpression du récepteur DRD2 induit par l'APG.

### 6.2. Perspectives

#### 6.2.1. Les mécanismes de transduction

En perspectives, le modèle cellulaire servira à étudier en détail les facteurs de transcription et les cascades de signalisation impliqués dans la surexpression du récepteur DRD2 et le

stress oxydatif induits par l'halopéridol, afin de mieux comprendre le mécanisme de développement de la dyskinésie tardive. Il a été démontré que plusieurs facteurs sont activés par les ROS (Finkel et Holbrook, 2000).

#### 6.2.1.1. Les facteurs impliqués dans le stress oxydatif

##### 6.2.1.1.1. Le facteur de transcription NFκB

À l'état de repos, le facteur NFκB (de l'anglais *nuclear factor-kappa B*) est présent dans le cytoplasme sous forme d'hétérodimère inactif, formé des sous-unités p50 et p65, complexé à IκB (de l'anglais *I-kappa-B*), une sous-unité protéique inhibitrice. Après une stimulation, une cascade de kinase IKK (de l'anglais *IκB kinases*) provoque la phosphorylation de IκB, ce qui convertit IκB en substrat pour sa dégradation par un protéasome. La dissociation d'IκB au complexe p50-p65 de NFκB libère ainsi NFκB et le transloque au noyau (Jove *et al.*, 2006) (voir la figure 14).

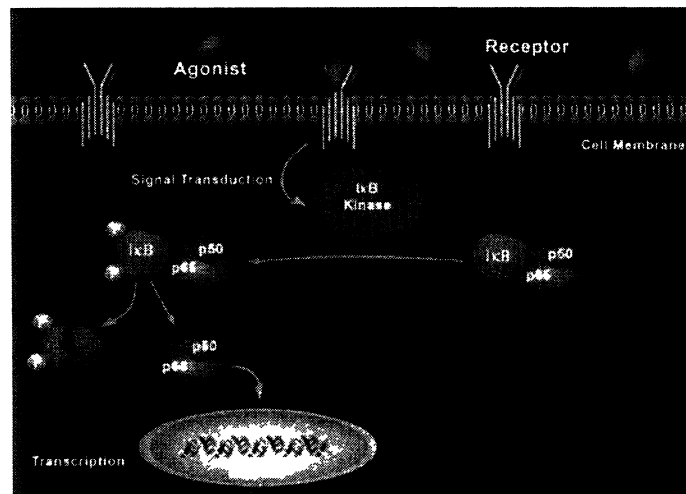


Figure 14. Le mécanisme d'activation de NFκB. À l'état de repos, le facteur NFκB (de l'anglais *nuclear factor-kappa B*) est présent dans le cytoplasme sous forme d'hétérodimère inactif, formé des sous-unités p50 et p65, complexé à IκB (de l'anglais *I-kappa-B*). Après une stimulation, la kinase IKK (de l'anglais *IκB kinases*) provoque la phosphorylation de IκB, qui est dégradé. La dissociation d'IκB au complexe de NFκB libère ainsi NFκB et le transloque au noyau.



Il a été démontré que précédemment, dans mon laboratoire d'accueil, que le  $H_2O_2$  active la translocation nucléaire de NF $\kappa$ B sur les cellules de neuroblastomes humains SH-SY5Y (Larouche *et al.*, 2008), ce qui confirme que NF $\kappa$ B est activé via les mécanismes rédox cellulaires (Molitor *et al.*, 1991; Toledano et Leonard, 1991). L'halopéridol induit l'expression de NF $\kappa$ B, qui répond directement au stress oxydatif (Post *et al.*, 1998). Enfin, l'activation de NF $\kappa$ B est régulée positivement par le récepteur DRD2 (Fiorentini *et al.*, 2002), dont le promoteur humain contient deux sites de liaison pour NF $\kappa$ B (Bontempi *et al.*, 2007).

Il est à noter qu'il a été démontré que l'activation de NF $\kappa$ B était plus présente dans une co-culture neuronale-gliale, comparativement à des cultures de neurones ou d'astrocytes seulement, ce qui peut constituer une limite du modèle *in vitro* de neuroblastomes humains présenté ici.

#### 6.2.1.1.2. Les facteurs de transcription Sp1 et AP-1

Chez le rat, la séquence du récepteur DRD2 contient deux promoteurs indépendants (Valdenaire *et al.*, 1994) contenant plusieurs sites de liaison Sp1 (de l'anglais *Specificity Protein 1*) et AP-1 (de l'anglais *Activator Protein 1*) (Wang *et al.*, 1997). Il a été rapporté que la déplétion du GSH et le traitement au  $H_2O_2$ , *in vitro*, augmente la liaison des facteurs de transcription Sp1 et Sp3 (de l'anglais *Specificity Protein 3*) (Ryu *et al.*, 2003). Le facteur de transcription AP-1, quant à lui, est régulé positivement par le récepteur DRD2 (Wang *et al.*, 1997) et est activé par le  $H_2O_2$  (Aggeli *et al.*, 2006).

#### 6.2.1.1.3. Le facteur de transcription DRRF

Le facteur DRRF (de l'anglais *dopamine receptor regulating factor*), aussi connu sous le terme KLF16 (de l'anglais *Kruppel-like factor 16*), est distribué dans les régions striatale et mésolimbique (Lee *et al.*, 2003) et colocalise avec les récepteurs DRD1 et DRD2. Il a été démontré que l'altération de la neurotransmission dopaminergique induit une perturbation des niveaux de DRRF. De plus, DRRF lie les mêmes sites de liaison que Sp1 et AP-1, qui

sont d'autres facteurs de transcription modulés par les récepteurs dopaminergiques (Hwang *et al.*, 2001).

#### 6.2.1.1.4. Les cascades de signalisation de JNK et p38

Les kinases JNK (de l'anglais *c-Jun N-terminal Kinase*) et p38 sont deux sous-familles des MAPKs (de l'anglais *mitogen-activated protein kinase*) (Kyriakis et Avruch, 1996). Les kinases JNK et p38 sont activées par ASK1 (de l'anglais *Apoptosis Signal-regulating Kinase*). La protéine régulatrice à l'état rédox thiorédoxine (Trx) lie ASK1, inhibant ainsi son activité et celle de JNK et p38. Le stress oxydatif dissocie le complexe Trx-ASK1, activant ainsi ASK1 et les kinases JNK et p38 (Finkel et Holbrook, 2000) (voir la figure 15). En effet, il a été rapporté que la toxicité retrouvée chez les cellules dopaminergiques est associée à l'activation des cascades JNK et p38 (Gomez-Santos *et al.*, 2003), et que la phosphorylation de ces kinases est augmentée par  $H_2O_2$ , dont les effets sont inhibés par l'inhibition sélective de ces cascades (Aggeli *et al.*, 2006).

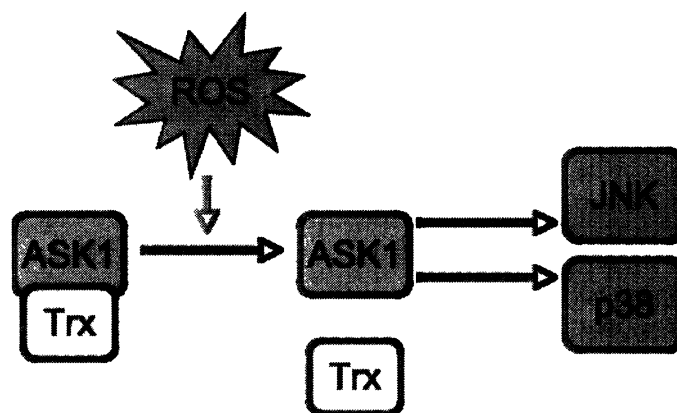


Figure 15. L'activation des kinases JNK (de l'anglais *c-Jun N-terminal Kinase*) et p38. Les kinases JNK et p38 sont activées par ASK1 (de l'anglais *Apoptosis Signal-regulating Kinase*). La thiorédoxine (Trx) lie ASK1, inhibant ainsi son activité et celle de JNK et p38. Le stress oxydatif dissocie le complexe Trx-ASK1, activant ainsi ASK1 et les kinases JNK et p38.

### 6.2.1.2. La cascade de signalisation Akt/GSK3 $\beta$

Une étude décrite antérieurement (Ghisi *et al.*, 2009), utilisant des souris exprimant le DAT (DAT-tg) et reproduisant un système hypodopaminergique, démontre que le traitement à l'AMPT des souris sauvages (WT, de l'anglais *wild-type*), qui amène une surexpression du récepteur DRD2 comme les souris DAT-tg, amène une augmentation de la phosphorylation de Akt (p-Akt). Ceci pourrait suggérer que l'halopéridol, en parallèle à la surexpression du récepteur DRD2, amène une augmentation de la phosphorylation de Akt (p-Akt). Le bloc pharmacologique du récepteur DRD2, par l'halopéridol, amène une augmentation du niveau de p-Akt chez les souris WT (Emamian *et al.*, 2004).

D'ailleurs, il a été suggéré deux phases de régulation du RCPG (voir la figure 16). La première phase, rapide et de courte durée, est médiée par les cascades AMPc-dépendantes, alors que la deuxième phase, lente et de longue durée, est dépendante de la signalisation de la  $\beta$ -arrestine2 (cascade de signalisation Akt/GSK3 $\beta$  (de l'anglais *Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$* )). En effet, la phosphorylation de ERK (de l'anglais *Extracellular-signal Regulated protein Kinase*) et de DARPP32 (de l'anglais *dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein with molecular weight 32*), qui est AMPc-dépendante, survient 30 minutes après l'administration d'amphétamine ou de cocaïne (Svenningsson *et al.*, 2003; Valjent *et al.*, 2000; Valjent *et al.*, 2006), alors que l'inhibition (déphosphorylation) de Akt par l'amphétamine apparaît dans les 30-60 minutes suivant l'administration et persiste au-dessus de l'effet comportemental (Beaulieu *et al.*, 2004; Beaulieu *et al.*, 2005; Beaulieu *et al.*, 2007).

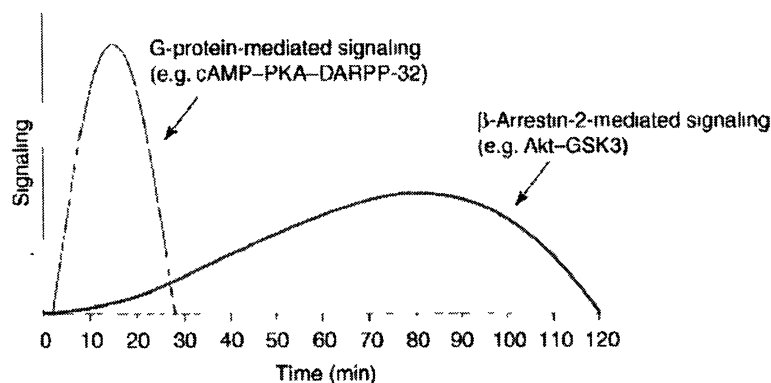


Figure 16. Les phases de réponse suite à l'activation du RCPG (récepteur couplé à la protéine G). La première phase, rapide et de courte durée, est médiée par les cascades AMPc-dépendantes, alors que la deuxième phase, lente et de longue durée, est dépendante de la signalisation de la  $\beta$ -arrestine2 (cascade de signalisation Akt/GSK3 $\beta$  (de l'anglais *Glycogen Synthase Kinase 3*)) (Beaulieu *et al.*, 2007).

#### 6.2.1.2.1. La cascade AMPc-dépendante

Le récepteur DRD2 régule les cascades AMPc-PKA via la signalisation médiée par la protéine G (action canonique) (voir la figure 16). Les effecteurs sont DARPP32, qui régule l'efficacité de la signalisation du récepteur dopaminergique (Greengard, 2001), et ERK, qui est impliqué dans les réponses aiguës et chroniques aux drogues dopaminergiques (Beaulieu *et al.*, 2006; Valjent *et al.*, 2006). La kinase ERK est une sous-famille des MAPKs (Kyriakis et Avruch, 1996). Il a été démontré que la TH, qui catalyse la synthèse de DA, est phosphorylée par ERK. En fait, l'augmentation de la phosphorylation de la TH par l'halopéridol est ERK-dépendante, puisqu'elle est prévenue par l'administration d'un bloqueur de l'activation de ERK (SL327) (Hakansson *et al.*, 2004).

#### 6.2.1.2.2. La cascade AMPc-indépendante

Il a été rapporté que le récepteur DRD2 signale via un mécanisme indépendant à la protéine G impliquant la cascade de signalisation Akt/GSK3 $\beta$ , médiée par la  $\beta$ -arrestine2 (voir la figure 17), qui a un rôle dans la désensibilisation du RCPG (Beaulieu *et al.*, 2004; Beaulieu *et al.*, 2005; Beaulieu *et al.*, 2006). Les niveaux de Akt et de GSK3 $\beta$  ne sont pas affectés

par la modulation directe de l'AMPC dans le striatum de souris, ce qui indique que cette cascade est indépendante à l'AMPC (Beaulieu *et al.*, 2004; Beaulieu *et al.*, 2005). Chez la souris n'exprimant pas la  $\beta$ -arrestine2 ( $\beta$ -arrestine2-KO), on n'observe pas d'action inhibitrice des niveaux élevés de DA sur la phosphorylation de Akt, ce qui indique que le récepteur DRD2 régule Akt via la  $\beta$ -arrestine2 (Beaulieu *et al.*, 2007).

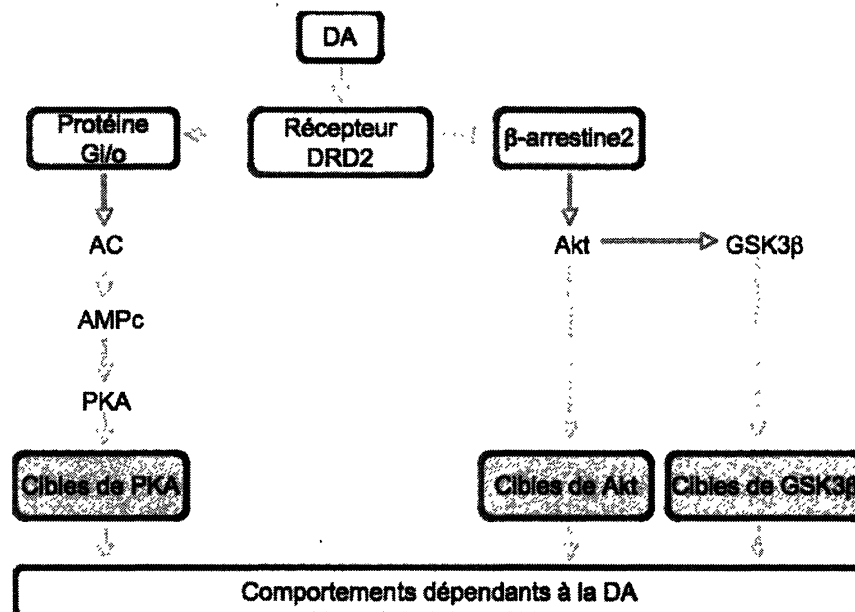


Figure 17. Les cascades de signalisation du RCPG (récepteur couplé à la protéine G). La dopamine (DA) active le récepteur dopaminergique de type 2 (DRD2) pour se lier à la protéine  $G_{i/o}$  (cascade AMPc-dépendante) ou la  $\beta$ -arrestine2 (cascade AMPc-indépendante), qui enchaîne la cascade de PKA (de l'anglais *Protein Kinase A*) et la cascade Akt/GSK3 $\beta$  (de l'anglais *Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$* ) respectivement.

#### 6.2.1.2.3. La cascade Akt/GSK3 $\beta$ dans la schizophrénie

Chez les schizophrènes, une diminution de l'activité de Akt a été observée (Zhao *et al.*, 2008). En fait, chez la souris n'exprimant pas le DAT (DAT-KO), qui constitue un modèle génétique de schizophrénie (Gainetdinov *et al.*, 1999; Giros *et al.*, 1996), on observe une inactivation de Akt et une activation de GSK3 $\beta$ . Ces altérations ne sont pas affectées par la cascade d'AMPC et sont normalisées par la diminution de la synthèse de DA, le bloc du

récepteur DRD2 et l'administration de lithium, un inhibiteur de GSK3 $\beta$  (Beaulieu *et al.*, 2004). Les APGs et les ASGs peuvent normaliser ce déséquilibre en prévenant la réduction de l'activité de Akt par le récepteur DRD2 et en augmentant la phosphorylation de GSK3 $\beta$ , qui correspond à son inhibition, en administration aigue ou chronique *in vivo* (Li et Xu, 2007). Ainsi, la cascade Akt/GSK3 $\beta$  constitue une nouvelle cible thérapeutique pour les désordres neuropsychiatriques (Beaulieu *et al.*, 2004; Beaulieu *et al.*, 2005; Beaulieu *et al.*, 2007; Emamian *et al.*, 2004; Li et Xu, 2007). La régulation de GSK3 $\beta$  par les APs a été démontrée sur les cellules SH-SY5Y (Sutton *et al.*, 2007), mais il a été suggéré que la cascade Akt/GSK3 $\beta$  a un rôle dans l'effet antipsychotique du traitement de la schizophrénie, alors que d'autres cascades de signalisation pourraient être impliqués dans l'induction des effets extrapyramidaux/secondaires induits par les APs (Beaulieu *et al.*, 2007).

#### 6.2.2. L'implication des cytokines dans la schizophrénie

L'implication des cytokines a été démontrée dans les conditions neuropsychiatriques. (Anisman et Merali, 2003; Kronfol et Remick, 2000). L'augmentation de l'activité des cytokines pro-inflammatoires, comme l'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), l'interleukine-6 (IL-6), l'interleukine-2 (IL-2), TNF- $\alpha$  (de l'anglais *tumor necrosis factor alpha*) et l'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (Potvin *et al.*, 2008), a été démontrée chez les schizophrènes, ce qui suggère un syndrome inflammatoire, à bas bruit, dans la pathophysiologie de la schizophrénie (Muller et Ackenheil, 1998). Il a été démontré, chez les schizophrènes, que l'augmentation du niveau de IFN- $\gamma$  (Theoharides *et al.*, 2004) est modulée par la DA, la 5-HT et le glutamate (Schaefer *et al.*, 2002). L'activation des cytokines au niveau neuronal a un effet sur la neurotransmission (Dunn *et al.*, 1999), surtout celle de la DA. En effet, une injection intracérébral de IL-1 $\beta$  augmente le métabolisme de DA (Dunn, 1992; Zalcman *et al.*, 1994), ce qui suggère une implication potentielle de IL-1 $\beta$  dans l'augmentation du stress oxydatif par l'halopéridol via l'augmentation du métabolisme de DA. De plus, l'augmentation des niveaux de IL-1 $\beta$  et de TNF- $\alpha$  corrèle avec l'activation de NF $\kappa$ B (Song *et al.*, 2009). La suppression de l'activation de NF $\kappa$ B et de AP-1 diminue les niveaux de IL-1 $\beta$ , IL-6 et TNF- $\alpha$  (Wang *et al.*, 2005), ce qui démontre l'importante interaction entre

ces facteurs de transcription et le niveau de cytokines pro-inflammatoires. Le traitement aux APs affecte aussi les niveaux de cytokines (Pollmacher *et al.*, 2000). De plus, il a été démontré que l'acide lipoïque réduit le niveau de NFκB induite par TNF-α *in vitro*, ce qui suggère que l'acide lipoïque peut inhiber les conditions pro-inflammatoires via son interaction avec NFκB (Zhang et Frei, 2001).

#### 6.2.2.1. L'étude des cytokines dans le modèle cellulaire

En plus d'étudier l'influence ces cytokines dans le modèle *in vivo* présenté ultérieurement (voir la section 6.2.3.1.), il serait intéressant d'étudier le niveau et l'effet des cytokines, dans le modèle *in vitro* présenté ici, suite au traitement aux APs et à l'acide lipoïque. La libération endogène des cytokines se fait par les cellules résidentes du SNC, c'est-à-dire les astrocytes, les microglies et les neurones (Becher *et al.*, 2000; Benveniste, 1998). Cependant, il a été démontré que les cytokines dérivées des astrocytes et des microglies affectent fortement la fonction des neurones (Merrill, 1992). Par exemple, l'activation de la microglie par IL-1β et TNF-α amène les neurones à libérer IL-2, qui module les systèmes de neurotransmetteurs et contribue au développement de la schizophrénie (Kowalski *et al.*, 2001). L'absence de cette interaction neuronale-gliale constitue donc une limite du modèle cellulaire présenté.

#### 6.2.3. Étude dans un modèle *in vivo*

De plus, il serait primordial de vérifier le lien entre la surexpression du récepteur DRD2 et le stress oxydatif sur un modèle *in vivo* de schizophrénie. Lorsque le modèle *in vivo* sera validé, il serait alors possible de traiter l'animal chroniquement aux APs afin de reproduire un modèle *in vivo* de dyskinésie tardive caractérisé par des comportements hypermoteurs (VCMs) (Naidu et Kulkarni, 2001; Naidu *et al.*, 2003; Sasaki *et al.*, 1995; Thaakur et Jyothi, 2007). Ce dernier phénomène a été associé à une augmentation de la densité du récepteur DRD2 malgré le bloc du récepteur par les APs (Waddington *et al.*, 1983). Ce modèle, en plus d'étudier les anomalies neurochimiques, immunes et comportementales,

nous permettra de vérifier le potentiel thérapeutique de l'acide lipoïque dans la prévention du développement de la dyskinésie tardive.

#### 6.2.3.1. Le modèle *in vivo* de schizophrénie

L'activation immunitaire maternelle, chez la souris, suite à une injection d'acide polyinosinique:polycytidylique (Poly I:C), provoque des comportements associés à la schizophrénie et une altération de la transmission dopaminergique chez les souriceaux (Ozawa *et al.*, 2006) et constitue un des modèles les plus représentatifs pour étudier le développement de la schizophrénie (Meyer *et al.*, 2005). Le poly I:C est un analogue synthétique d'ARN double-brin qui mime une activation virale et active ainsi le système immunitaire (Jacobs et Langland, 1996). Chez les souriceaux dont la mère a reçu une injection de Poly I:C, on observe une diminution du comportement exploratoire et de l'interaction sociale et un déficit de l'inhibition par prépulse sonore du réflexe de sursaut auditif (IPP ou *PPI*, de l'anglais *prepulse inhibition*). L'IPP est un phénomène qui se caractérise par une diminution de la réponse à un stimulus s'il est précédé d'un stimulus de moindre intensité, mais trop petit pour induire un réflexe. Le déficit de l'IPP est une anomalie schizophrénique (Geyer, 1999) qui peut être normalisée par le traitement aux APs (Swerdlow *et al.*, 1998). Il a été démontré que l'administration d'agonistes pour le récepteur DRD2 induit un déficit de l'IPP (Geyer *et al.*, 2001), ce qui suggère que l'IPP est médiée par le récepteur DRD2 (Ralph *et al.*, 1999). De plus, dans le même modèle animal décrit, on retrouve des anomalies immunes associées à la schizophrénie (Muller *et al.*, 1999; Nawa *et al.*, 2000; Rothermundt *et al.*, 2001; Wright et Murray, 1993). En effet, les cytokines libérées par le système immunitaire maternel peuvent traverser le placenta et pénétrer dans la circulation fœtale, ce qui augmente le niveau de cytokines dans l'environnement fœtal et amène des perturbations neurodéveloppementales (Gayle *et al.*, 2004; Urakubo *et al.*, 2001). Ce modèle animal serait idéal pour étudier les anomalies neurochimiques et comportementales associées au traitement chronique aux APs et au développement de la dyskinésie tardive.



## 7. Remerciements

Tout d'abord, je remercie infiniment mes co-directeurs de recherche, Sylvain Grignon MD PhD et Philippe Sarret PhD pour leur confiance en moi, autant pour m'avoir accueilli durant mon projet de maîtrise que pour mon prochain projet de doctorat, et pour leur dévouement à mon apprentissage et aux réponses à mes questions, innombrables soient-elles. Je remercie spécialement Sylvain Grignon pour m'avoir donné l'incalculable privilège de participer à des congrès scientifiques de grande envergure, qui ont été pour moi une révélation en ce qui concerne mon choix de domaine d'études. Je le remercie pour le précieux temps qu'il m'a accordé pour m'écouter et discuter. L'ensemble des étudiants de Philippe Sarret ainsi que son équipe, particulièrement son associé de recherche, Nicolas Beaudet, sont remerciés pour leur partage des connaissances, leur collaboration et leurs réponses à mes questions.

Je remercie Patrick Bérubé MSc, qui a fait son projet de maîtrise dans mon laboratoire d'accueil et qui a été un excellent point de référence en ce qui concerne les connaissances sur le sujet et les techniques de laboratoire. Annie Larouche, assistante de recherche au laboratoire, est aussi remerciée.

Le directeur du département de psychiatrie, Pierre Beauséjour MD, est également remercié pour l'investissement qu'il accorde au laboratoire de recherche.

Les professeurs Stephen Cunnane PhD et Guillaume Sébire MD PhD sont remerciés pour avoir accepté de prendre part au jury de mon mémoire, en tant que membres interne et externe du département respectivement, et pour le temps précieux qu'ils ont accordé à la correction de ce travail.

Enfin, je tiens à remercier infiniment mes parents, qui m'ont appris à toujours me surpasser et à faire en sorte que mon handicap auditif ne soit pas un obstacle à l'accomplissement de

mes projets et mes rêves. Sans cet apprentissage, ces lignes ne seraient pas écrites. Je remercie également mon frère, qui est une véritable source d'inspiration et de détermination pour moi. Je remercie aussi mes amis, dont le soutien et les conseils me sont grandement précieux.

## 8. Liste des publications

- Abi-Dargham, A., R. Gil, J. Krystal, R. M. Baldwin, J. P. Seibyl, M. Bowers, C. H. van Dyck, D. S. Charney, R. B. Innis and M. Laruelle** (1998). Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry* 155 (6): 761-7.
- Abi-Dargham, A., J. Rodenhiser, D. Printz, Y. Zea-Ponce, R. Gil, L. S. Kegeles, R. Weiss, T. B. Cooper, J. J. Mann, R. L. Van Heertum, J. M. Gorman and M. Laruelle** (2000). Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 (14): 8104-9.
- Aggeli, I. K., C. Gaitanaki and I. Beis** (2006). Involvement of JNKs and p38-MAPK/MSK1 pathways in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced upregulation of heme oxygenase-1 mRNA in H9c2 cells. *Cell Signal* 18 (10): 1801-12.
- Agostinho, F. R., L. K. Jornada, N. Schroder, R. Roesler, F. Dal-Pizzol and J. Quevedo** (2007). Effects of chronic haloperidol and/or clozapine on oxidative stress parameters in rat brain. *Neurochem Res* 32 (8): 1343-50.
- Akiyama, K., A. Kanzaki, K. Tsuchida and H. Ujike** (1994). Methamphetamine-induced behavioral sensitization and its implications for relapse of schizophrenia. *Schizophr Res* 12 (3): 251-7.
- Amoroso, S., A. Gioielli, M. Cataldi, G. Di Renzo and L. Annunziato** (1999). In the neuronal cell line SH-SY5Y, oxidative stress-induced free radical overproduction causes cell death without any participation of intracellular Ca(2+) increase. *Biochim Biophys Acta* 1452 (2): 151-60.
- Anden, N. E. and G. Stock** (1973). Effect of clozapine on the turnover of dopamine in the corpus striatum and in the limbic system. *J Pharm Pharmacol* 25 (4): 346-8.
- Andersson, U., J. E. Haggstrom, E. D. Levin, U. Bondesson, M. Valverius and L. M. Gunne** (1989). Reduced glutamate decarboxylase activity in the subthalamic nucleus in patients with tardive dyskinesia. *Mov Disord* 4 (1): 37-46.
- Andreasen, N. C. and S. Olsen** (1982). Negative v positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry* 39 (7): 789-94.
- Andreasen, N. C.** (1989). The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. *Br J Psychiatry Suppl* (7): 49-58.
- Andreassen, O. A. and H. A. Jorgensen** (2000). Neurotoxicity associated with neuroleptic-induced oral dyskinesias in rats. Implications for tardive dyskinesia? *Prog Neurobiol* 61 (5): 525-41.
- Andreassen, O. A., R. J. Ferrante, T. O. Aamo, M. F. Beal and H. A. Jorgensen** (2003). Oral dyskinesias and histopathological alterations in substantia nigra after long-term haloperidol treatment of old rats. *Neuroscience* 122 (3): 717-25.
- Anisman, H. and Z. Merali** (2003). Cytokines, stress and depressive illness: brain-immune interactions. *Ann Med* 35 (1): 2-11.
- Antonova, E., T. Sharma, R. Morris and V. Kumari** (2004). The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review. *Schizophr Res* 70 (2-3): 117-45.

- Asper, H., M. Baggiolini, H. R. Burki, H. Lauener, W. Ruch and G. Stille** (1973). Tolerance phenomena with neuroleptics catalepsy, apomorphine stereotypies and striatal dopamine metabolism in the rat after single and repeated administration of loxapine and haloperidol. *Eur J Pharmacol* 22 (3): 287-94.
- Atkuri, K. R., J. J. Mantovani and L. A. Herzenberg** (2007). N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 7 (4): 355-9.
- Ault, D. T. and L. L. Werling** (2000). SH-SY5Y cells as a model for sigma receptor regulation of potassium-stimulated dopamine release. *Brain Res* 877 (2): 354-60.
- Aydin, S., R. Ozaras, H. Uzun, A. Belce, E. Uslu, V. Tahan, T. Altug, E. Dumen and H. Senturk** (2002). N-acetylcysteine reduced the effect of ethanol on antioxidant system in rat plasma and brain tissue. *Tohoku J Exp Med* 198 (2): 71-7.
- Balijepalli, S., R. S. Kenchappa, M. R. Boyd and V. Ravindranath** (2001). Protein thiol oxidation by haloperidol results in inhibition of mitochondrial complex I in brain regions: comparison with atypical antipsychotics. *Neurochem Int* 38 (5): 425-35.
- Bannister, J. V. and L. Calabrese** (1987). Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal* 32 279-312.
- Barnes, T. R.** (1989). A rating scale for drug-induced akathisia. *Br J Psychiatry* 154 672-6.
- Bassitt, D. P. and M. R. Louza Neto** (1998). Clozapine efficacy in tardive dyskinesia in schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 248 (4): 209-11.
- Basu, A. and H. Y. Meltzer** (2006). Differential trends in prevalence of diabetes and unrelated general medical illness for schizophrenia patients before and after the atypical antipsychotic era. *Schizophr Res* 86 (1-3): 99-109.
- Beaulieu, J. M., T. D. Sotnikova, W. D. Yao, L. Kockeritz, J. R. Woodgett, R. R. Gainetdinov and M. G. Caron** (2004). Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 (14): 5099-104.
- Beaulieu, J. M., T. D. Sotnikova, S. Marion, R. J. Lefkowitz, R. R. Gainetdinov and M. G. Caron** (2005). An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell* 122 (2): 261-73.
- Beaulieu, J. M., T. D. Sotnikova, R. R. Gainetdinov and M. G. Caron** (2006). Paradoxical striatal cellular signaling responses to psychostimulants in hyperactive mice. *J Biol Chem* 281 (43): 32072-80.
- Beaulieu, J. M., R. R. Gainetdinov and M. G. Caron** (2007). The Akt-GSK-3 signaling cascade in the actions of dopamine. *Trends Pharmacol Sci* 28 (4): 166-72.
- Becher, B., A. Prat and J. P. Antel** (2000). Brain-immune connection: immuno-regulatory properties of CNS-resident cells. *Glia* 29 (4): 293-304.
- Benveniste, E. N.** (1998). Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev* 9 (3-4): 259-75.
- Benzi, G. and A. Moretti** (1995). Age- and peroxidative stress-related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and the glutathione system. *Free Radic Biol Med* 19 (1): 77-101.
- Bernard, V., C. Le Moine and B. Bloch** (1991). Striatal neurons express increased level of dopamine D2 receptor mRNA in response to haloperidol treatment: a quantitative in situ hybridization study. *Neuroscience* 45 (1): 117-26.
- Beuzen, J. N., N. Taylor, K. Wesnes and A. Wood** (1999). A comparison of the effects of olanzapine, haloperidol and placebo on cognitive and psychomotor functions in healthy elderly volunteers. *J Psychopharmacol* 13 (2): 152-8.

- Bharat, S., B. C. Cochran, M. Hsu, J. Liu, B. N. Ames and J. K. Andersen** (2002). Pre-treatment with R-lipoic acid alleviates the effects of GSH depletion in PC12 cells: implications for Parkinson's disease therapy. *Neurotoxicology* 23 (4-5): 479-86.
- Biedler, J. L., S. Roffler-Tarlov, M. Schachner and L. S. Freedman** (1978). Multiple neurotransmitter synthesis by human neuroblastoma cell lines and clones. *Cancer Res* 38 (11 Pt 1): 3751-7.
- Bilska, A., M. Dubiel, M. Sokolowska-Jezewicz, E. Lorenc-Koci and L. Wlodek** (2007). Alpha-lipoic acid differently affects the reserpine-induced oxidative stress in the striatum and prefrontal cortex of rat brain. *Neuroscience* 146 (4): 1758-71.
- Bindokas, V. P., J. Jordan, C. C. Lee and R. J. Miller** (1996). Superoxide production in rat hippocampal neurons: selective imaging with hydroethidine. *J Neurosci* 16 (4): 1324-36.
- Bondy, B. and M. Ackenheil** (1987). 3H-spiperone binding sites in lymphocytes as possible vulnerability marker in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 21 (4): 521-9.
- Bontempi, S., C. Fiorentini, C. Busi, N. Guerra, P. Spano and C. Missale** (2007). Identification and characterization of two nuclear factor-kappaB sites in the regulatory region of the dopamine D2 receptor. *Endocrinology* 148 (5): 2563-70.
- Borgstrom, L., B. Kagedal and O. Paulsen** (1986). Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 31 (2): 217-22.
- Bouthenet, M. L., E. Souil, M. P. Martres, P. Sokoloff, B. Giros and J. C. Schwartz** (1991). Localization of dopamine D3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA. *Brain Res* 564 (2): 203-19.
- Bowers, M. B., Jr.** (1984). Homovanillic acid in caudate and pre-frontal cortex following neuroleptics. *Eur J Pharmacol* 99 (1): 103-5.
- Bozzi, Y. and E. Borrelli** (2006). Dopamine in neurotoxicity and neuroprotection: what do D2 receptors have to do with it? *Trends Neurosci* 29 (3): 167-74.
- Breier, A., T. P. Su, R. Saunders, R. E. Carson, B. S. Kolachana, A. de Bartolomeis, D. R. Weinberger, N. Weisenfeld, A. K. Malhotra, W. C. Eckelman and D. Pickar** (1997). Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 (6): 2569-74.
- Bromet, E. J. and S. Fennig** (1999). Epidemiology and natural history of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 46 (7): 871-81.
- Brown, K., A. Reid, T. White, T. Henderson, S. Hukin, C. Johnstone and A. Glen** (1998). Vitamin E, lipids, and lipid peroxidation products in tardive dyskinesia. *Biol Psychiatry* 43 (12): 863-7.
- Bunik, V. I., O. A. Buneeva and V. S. Gomazkova** (1990). Change in alpha-ketoglutarate dehydrogenase cooperative properties due to dihydrolipoate and NADH. *FEBS Lett* 269 (1): 252-4.
- Burkhardt, C., J. P. Kelly, Y. H. Lim, C. M. Filley and W. D. Parker, Jr.** (1993). Neuroleptic medications inhibit complex I of the electron transport chain. *Ann Neurol* 33 (5): 512-7.
- Burt, D. R., I. Creese and S. H. Snyder** (1976). Properties of [3H]haloperidol and [3H]dopamine binding associated with dopamine receptors in calf brain membranes. *Mol Pharmacol* 12 (5): 800-12.

- Cabungcal, J. H., D. Nicolas, R. Kraftsik, M. Cuenod, K. Q. Do and J. P. Hornung** (2006). Glutathione deficit during development induces anomalies in the rat anterior cingulate GABAergic neurons: Relevance to schizophrenia. *Neurobiol Dis* 22 (3): 624-37.
- Cabungcal, J. H., D. Preissmann, C. Delseth, M. Cuenod, K. Q. Do and F. Schenk** (2007). Transitory glutathione deficit during brain development induces cognitive impairment in juvenile and adult rats: relevance to schizophrenia. *Neurobiol Dis* 26 (3): 634-45.
- Cadet, J. L.** (1986). The potential use of vitamin E and selenium in parkinsonism. *Med Hypotheses* 20 (1): 87-94.
- Cadet, J. L. and J. B. Lohr** (1989). Possible involvement of free radicals in neuroleptic-induced movement disorders. Evidence from treatment of tardive dyskinesia with vitamin E. *Ann N Y Acad Sci* 570 176-85.
- Cadet, J. L. and C. Brannock** (1998). Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochem Int* 32 (2): 117-31.
- Calabresi, P., M. De Murtas, N. B. Mercuri and G. Bernardi** (1992). Chronic neuroleptic treatment: D2 dopamine receptor supersensitivity and striatal glutamatergic transmission. *Ann Neurol* 31 (4): 366-73.
- Carlsson, A. and M. Lindqvist** (1963). Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 20 140-4.
- Carlsson, M. and A. Carlsson** (1990). Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia--implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 13 (7): 272-6.
- Carriere, A., A. Galinier, Y. Fernandez, M. C. Carmona, L. Penicaud and L. Casteilla** (2006). [Physiological and physiopathological consequences of mitochondrial reactive oxygen species]. *Med Sci (Paris)* 22 (1): 47-53.
- Casey, D. E.** (1985). Tardive dyskinesia: reversible and irreversible. *Psychopharmacology Suppl* 2 88-97.
- Castagne, V., M. Cuenod and K. Q. Do** (2004). An animal model with relevance to schizophrenia: sex-dependent cognitive deficits in osteogenic disorder-Shionogi rats induced by glutathione synthesis and dopamine uptake inhibition during development. *Neuroscience* 123 (4): 821-34.
- Castagne, V., M. Rougemont, M. Cuenod and K. Q. Do** (2004). Low brain glutathione and ascorbic acid associated with dopamine uptake inhibition during rat's development induce long-term cognitive deficit: relevance to schizophrenia. *Neurobiol Dis* 15 (1): 93-105.
- Chang, W. H., M. W. Jann, T. S. Chiang, H. N. Lin, W. H. Hu and C. P. Chien** (1996). Plasma haloperidol and reduced haloperidol concentrations in a geriatric population. *Neuropsychobiology* 33 (1): 12-6.
- Chidiac, P., M. A. Green, A. B. Pawagi and J. W. Wells** (1997). Cardiac muscarinic receptors. Cooperativity as the basis for multiple states of affinity. *Biochemistry* 36 (24): 7361-79.
- Civelli, O., J. R. Bunzow and D. K. Grandy** (1993). Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33 281-307.
- Clow, A., A. Theodorou, P. Jenner and C. D. Marsden** (1980). Changes in rat striatal dopamine turnover and receptor activity during one years neuroleptic administration. *Eur J Pharmacol* 63 (2-3): 135-44.

- Cohen, G. and M. B. Spina** (1989). Deprenyl suppresses the oxidant stress associated with increased dopamine turnover. *Ann Neurol* 26 (5): 689-90.
- Correll, C. U., S. Leucht and J. M. Kane** (2004). Lower risk for tardive dyskinesia associated with second-generation antipsychotics: a systematic review of 1-year studies. *Am J Psychiatry* 161 (3): 414-25.
- Coyle, J. T.** (2006). Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol* 26 (4-6): 365-84.
- Creese, I., D. R. Burt and S. H. Snyder** (1976). Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science* 192 (4238): 481-3.
- Cremer, D. R., R. Rabeler, A. Roberts and B. Lynch** (2006). Long-term safety of alpha-lipoic acid (ALA) consumption: A 2-year study. *Regul Toxicol Pharmacol* 46 (3): 193-201.
- Dakhale, G., S. Khanzode, A. Saoji, L. Khobragade and A. Turankar** (2004). Oxidative damage and schizophrenia: the potential benefit by atypical antipsychotics. *Neuropsychobiology* 49 (4): 205-9.
- Dal-Pizzol, F., F. Klamt, M. S. Benfato, E. A. Bernard and J. C. Moreira** (2001). Retinol supplementation induces oxidative stress and modulates antioxidant enzyme activities in rat sertoli cells. *Free Radic Res* 34 (4): 395-404.
- Daly, D. A. and B. Moghaddam** (1993). Actions of clozapine and haloperidol on the extracellular levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex and striatum of conscious rats. *Neurosci Lett* 152 (1-2): 61-4.
- Damier, P., E. C. Hirsch, P. Zhang, Y. Agid and F. Javoy-Agid** (1993). Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neuroscience* 52 (1): 1-6.
- Dauer, W. and S. Przedborski** (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* 39 (6): 889-909.
- Davies, K. J.** (1987). Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. *J Biol Chem* 262 (20): 9895-901.
- De Lean, A., J. M. Stadel and R. J. Lefkowitz** (1980). A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 255 (15): 7108-17.
- de Leon, J., L. Moral and C. Camunas** (1991). Clozapine and jaw dyskinesia: a case report. *J Clin Psychiatry* 52 (12): 494-5.
- Debonnel, G. and C. de Montigny** (1996). Modulation of NMDA and dopaminergic neurotransmissions by sigma ligands: possible implications for the treatment of psychiatric disorders. *Life Sci* 58 (9): 721-34.
- Deby-Dupont, G., H. Ducarne, A. Lefevre, C. Deby, G. Lennes and R. Goutier** (1980). [The relation between polyunsaturated fatty acids and cardio-vascular accidents. I. Study of fatty acid components phospholipids]. *Acta Cardiol* 35 (2): 83-91.
- Delacourte, A., A. Defossez, I. Ceballos, A. Nicole and P. M. Sinet** (1988). Preferential localization of copper zinc superoxide dismutase in the vulnerable cortical neurons in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 92 (3): 247-53.
- Deutch, A. Y., B. Moghaddam, R. B. Innis, J. H. Krystal, G. K. Aghajanian, B. S. Bunney and D. S. Charney** (1991). Mechanisms of action of atypical antipsychotic drugs. Implications for novel therapeutic strategies for schizophrenia. *Schizophr Res* 4 (2): 121-56.
- Deutch, A. Y.** (1993). Prefrontal cortical dopamine systems and the elaboration of functional corticostriatal circuits: implications for schizophrenia and Parkinson's disease. *J Neural Transm Gen Sect* 91 (2-3): 197-221.

- Dietrich, M., G. Block, M. Hudes, J. D. Morrow, E. P. Norkus, M. G. Traber, C. E. Cross and L. Packer** (2002). Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F(2)-isoprostanes in plasma of smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11 (1): 7-13.
- Do, K. Q., A. H. Trabesinger, M. Kirsten-Kruger, C. J. Lauer, U. Dydak, D. Hell, F. Holsboer, P. Boesiger and M. Cuenod** (2000). Schizophrenia: glutathione deficit in cerebrospinal fluid and prefrontal cortex in vivo. *Eur J Neurosci* 12 (10): 3721-8.
- Dunn, A. J.** (1992). Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther* 261 (3): 964-9.
- Dunn, A. J., J. Wang and T. Ando** (1999). Effects of cytokines on cerebral neurotransmission. Comparison with the effects of stress. *Adv Exp Med Biol* 461 117-27.
- Dyatlov, V. A., V. V. Makovetskaia, R. Leonhardt, D. A. Lawrence and D. O. Carpenter** (1998). Vitamin E enhances Ca(2+)-mediated vulnerability of immature cerebellar granule cells to ischemia. *Free Radic Biol Med* 25 (7): 793-802.
- Egan, M. F., J. Apud and R. J. Wyatt** (1997). Treatment of tardive dyskinesia. *Schizophr Bull* 23 (4): 583-609.
- Elkashef, A. M., P. E. Ruskin, N. Bacher and D. Barrett** (1990). Vitamin E in the treatment of tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 147 (4): 505-6.
- Elkashef, A. M. and R. J. Wyatt** (1999). Tardive dyskinesia: possible involvement of free radicals and treatment with vitamin E. *Schizophr Bull* 25 (4): 731-40.
- Elsworth, J. D. and R. H. Roth** (1997). Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 144 (1): 4-9.
- Emamian, E. S., D. Hall, M. J. Birnbaum, M. Karayiorgou and J. A. Gogos** (2004). Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 $\beta$  signaling in schizophrenia. *Nat Genet* 36 (2): 131-7.
- Esterbauer, H., R. J. Schaur and H. Zollner** (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 11 (1): 81-128.
- Farde, L., A. L. Nordstrom, C. Halldin, F. A. Wiesel and G. Sedvall** (1992). PET studies of dopamine receptors in relation to antipsychotic drug treatment. *Clin Neuropharmacol* 15 Suppl 1 Pt A 468A-469A.
- Fendri, C., A. Mechri, G. Khiari, A. Othman, A. Kerkeni and L. Gaha** (2006). [Oxidative stress involvement in schizophrenia pathophysiology: a review]. *Encephale* 32 (2 Pt 1): 244-52.
- Fenton, W. S., J. Hibbeln and M. Knable** (2000). Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 47 (1): 8-21.
- Finkel, T. and N. J. Holbrook** (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408 (6809): 239-47.
- Fiorentini, C., N. Guerra, M. Facchetti, A. Finardi, L. Tiberio, L. Schiaffonati, P. Spano and C. Missale** (2002). Nerve growth factor regulates dopamine D(2) receptor expression in prolactinoma cell lines via p75(NGFR)-mediated activation of nuclear factor-kappaB. *Mol Endocrinol* 16 (2): 353-66.
- Fiskum, G., A. Starkov, B. M. Polster and C. Chinopoulos** (2003). Mitochondrial mechanisms of neural cell death and neuroprotective interventions in Parkinson's disease. *Ann N Y Acad Sci* 991 111-9.



- Flanagan, R. J. and T. J. Meredith** (1991). Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *Am J Med* 91 (3C): 131S-139S.
- Flaum, M. and N. C. Andreasen** (1991). Diagnostic criteria for schizophrenia and related disorders: options for DSM-IV. *Schizophr Bull* 17 (1): 133-56.
- Fonck, C. and M. Baudry** (2003). Rapid reduction of ATP synthesis and lack of free radical formation by MPP<sup>+</sup> in rat brain synaptosomes and mitochondria. *Brain Res* 975 (1-2): 214-21.
- Foster, T. S.** (2007). Efficacy and safety of alpha-lipoic acid supplementation in the treatment of symptomatic diabetic neuropathy. *Diabetes Educ* 33 (1): 111-7.
- Freneau, R. T., Jr., G. E. Duncan, M. G. Fornaretto, A. Dearry, J. A. Gingrich, G. R. Breese and M. G. Caron** (1991). Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 (9): 3772-6.
- Fu, A. L., Z. H. Dong and M. J. Sun** (2006). Protective effect of N-acetyl-L-cysteine on amyloid beta-peptide-induced learning and memory deficits in mice. *Brain Res* 1109 (1): 201-6.
- Gainetdinov, R. R., S. R. Jones and M. G. Caron** (1999). Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knock-out mice. *Biol Psychiatry* 46 (3): 303-11.
- Gama, C. S., M. Salvador, A. C. Andreazza, F. Kapczinski and P. Silva Belmonte-de-Abreu** (2006). Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in schizophrenia: a study of patients treated with haloperidol or clozapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30 (3): 512-5.
- Gattaz, W. F., A. Emrich and S. Behrens** (1993). Vitamin E attenuates the development of haloperidol-induced dopaminergic hypersensitivity in rats: possible implications for tardive dyskinesia. *J Neural Transm Gen Sect* 92 (2-3): 197-201.
- Gayle, D. A., R. Belosoesky, M. Desai, F. Amidi, S. E. Nunez and M. G. Ross** (2004). Maternal LPS induces cytokines in the amniotic fluid and corticotropin releasing hormone in the fetal rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286 (6): R1024-9.
- George, S. R., M. Watanabe, T. Di Paolo, P. Falardeau, F. Labrie and P. Seeman** (1985). The functional state of the dopamine receptor in the anterior pituitary is in the high affinity form. *Endocrinology* 117 (2): 690-7.
- Gerard-Monnier, D., I. Erdelmeier, K. Regnard, N. Moze-Henry, J. C. Yadan and J. Chaudiere** (1998). Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 11 (10): 1176-83.
- Gerding, L. B., L. A. Labbate, M. O. Measom, A. B. Santos and G. W. Arana** (1999). Alcohol dependence and hospitalization in schizophrenia. *Schizophr Res* 38 (1): 71-5.
- Gerfen, C. R., T. M. Engber, L. C. Mahan, Z. Susel, T. N. Chase, F. J. Monsma, Jr. and D. R. Sibley** (1990). D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250 (4986): 1429-32.
- Gerlach, J. and D. E. Casey** (1988). Tardive dyskinesia. *Acta Psychiatr Scand* 77 (4): 369-78.
- Geyer, M. A.** (1999). Assessing prepulse inhibition of startle in wild-type and knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* 147 (1): 11-3.
- Geyer, M. A., K. Krebs-Thomson, D. L. Braff and N. R. Swerdlow** (2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology (Berl)* 156 (2-3): 117-54.

- Ghisi, V., A. J. Ramsey, B. Masri, R. R. Gainetdinov, M. G. Caron and A. Salahpour** (2009). Reduced D2-mediated signaling activity and trans-synaptic upregulation of D1 and D2 dopamine receptors in mice overexpressing the dopamine transporter. *Cell Signal* 21 (1): 87-94.
- Giannini, A. J., M. S. Eighan, R. H. Loiselle and M. C. Giannini** (1984). Comparison of haloperidol and chlorpromazine in the treatment of phencyclidine psychosis. *J Clin Pharmacol* 24 (4): 202-4.
- Giros, B., M. Jaber, S. R. Jones, R. M. Wightman and M. G. Caron** (1996). Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 379 (6566): 606-12.
- Glazer, W. M., H. Morgenstern, N. Schooler, C. S. Berkman and D. C. Moore** (1990). Predictors of improvement in tardive dyskinesia following discontinuation of neuroleptic medication. *Br J Psychiatry* 157 585-92.
- Goeree, R., F. Farahati, N. Burke, G. Blackhouse, D. O'Reilly, J. Pyne and J. E. Tarride** (2005). The economic burden of schizophrenia in Canada in 2004. *Curr Med Res Opin* 21 (12): 2017-28.
- Goff, D. C. and J. T. Coyle** (2001). The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 158 (9): 1367-77.
- Goldberg, T. E., L. B. Bigelow, D. R. Weinberger, D. G. Daniel and J. E. Kleinman** (1991). Cognitive and behavioral effects of the coadministration of dextroamphetamine and haloperidol in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148 (1): 78-84.
- Gomez-Santos, C., I. Ferrer, A. F. Santidrian, M. Barrachina, J. Gil and S. Ambrosio** (2003). Dopamine induces autophagic cell death and alpha-synuclein increase in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Neurosci Res* 73 (3): 341-50.
- Greenamyre, J. T., T. B. Sherer, R. Betarbet and A. V. Panov** (2001). Complex I and Parkinson's disease. *IUBMB Life* 52 (3-5): 135-41.
- Greengard, P.** (2001). The neurobiology of dopamine signaling. *Biosci Rep* 21 (3): 247-69.
- Grima, G., B. Benz, V. Parpura, M. Cuenod and K. Q. Do** (2003). Dopamine-induced oxidative stress in neurons with glutathione deficit: implication for schizophrenia. *Schizophr Res* 62 (3): 213-24.
- Grohmann, R., R. Koch and L. G. Schmidt** (1990). Extrapyramidal symptoms in neuroleptic recipients. *Agents Actions Suppl* 29 71-82.
- Gupta, S., D. Mosnik, D. W. Black, S. Berry and P. S. Masand** (1999). Tardive dyskinesia: review of treatments past, present, and future. *Ann Clin Psychiatry* 11 (4): 257-66.
- Hagen, T. M., R. T. Ingersoll, J. Lykkesfeldt, J. Liu, C. M. Wehr, V. Vinarsky, J. C. Bartholomew and A. B. Ames** (1999). (R)-alpha-lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage, and increased metabolic rate. *Faseb J* 13 (2): 411-8.
- Hakansson, K., L. Pozzi, A. Usiello, J. Haycock, E. Borrelli and G. Fisone** (2004). Regulation of striatal tyrosine hydroxylase phosphorylation by acute and chronic haloperidol. *Eur J Neurosci* 20 (4): 1108-12.
- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge** (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1 (8391): 1396-7.

- Halliwell, B.** (1989). Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand Suppl* 126 23-33.
- Halliwell, B.** (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59 (5): 1609-23.
- Halliwell, B.** (2003). Oxidative stress in cell culture: an under-appreciated problem? *FEBS Lett* 540 (1-3): 3-6.
- Halliwell, B.** (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97 (6): 1634-58.
- Han, D., G. Handelman, L. Marcocci, C. K. Sen, S. Roy, H. Kobuchi, H. J. Tritschler, L. Flohe and L. Packer** (1997). Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization. *Biofactors* 6 (3): 321-38.
- Harvey, B. H., C. Joubert, J. L. du Preez and M. Berk** (2008). Effect of chronic N-acetyl cysteine administration on oxidative status in the presence and absence of induced oxidative stress in rat striatum. *Neurochem Res* 33 (3): 508-17.
- Helmeste, D. M., S. W. Tang, W. E. Bunney, Jr., S. G. Potkin and E. G. Jones** (1996). Decrease in sigma but no increase in striatal dopamine D4 sites in schizophrenic brains. *Eur J Pharmacol* 314 (3): R3-5.
- Hersch, S. M., B. J. Ciliax, C. A. Gutekunst, H. D. Rees, C. J. Heilman, K. K. Yung, J. P. Bolam, E. Ince, H. Yi and A. I. Levey** (1995). Electron microscopic analysis of D1 and D2 dopamine receptor proteins in the dorsal striatum and their synaptic relationships with motor corticostriatal afferents. *J Neurosci* 15 (7 Pt 2): 5222-37.
- Holmquist, L., G. Stuchbury, K. Berbaum, S. Muscat, S. Young, K. Hager, J. Engel and G. Munch** (2007). Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. *Pharmacol Ther* 113 (1): 154-64.
- Horrobin, D. F., M. S. Manku, H. Hillman, A. Iain and M. Glen** (1991). Fatty acid levels in the brains of schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry* 30 (8): 795-805.
- Horrobin, D. F., A. I. Glen and K. Vaddadi** (1994). The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Res* 13 (3): 195-207.
- Hwang, C. K., U. M. D'Souza, A. J. Eisch, S. Yajima, C. H. Lammers, Y. Yang, S. H. Lee, Y. M. Kim, E. J. Nestler and M. M. Mouradian** (2001). Dopamine receptor regulating factor, DRRF: a zinc finger transcription factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98 (13): 7558-63.
- Inoue, A., S. Sugita, H. Shoji, H. Ichimoto, I. Hide and Y. Nakata** (2000). Repeated haloperidol treatment decreases sigma(1) receptor binding but does not affect its mRNA levels in the guinea pig or rat brain. *Eur J Pharmacol* 401 (3): 307-16.
- Itzhak, Y. and S. Alerhand** (1989). Differential regulation of sigma and PCP receptors after chronic administration of haloperidol and phencyclidine in mice. *Faseb J* 3 (7): 1868-72.
- Itzhak, Y. and I. Stein** (1991). Regulation of sigma receptors and responsiveness to guanine nucleotides following repeated exposure of rats to haloperidol: further evidence for multiple sigma binding sites. *Brain Res* 566 (1-2): 166-72.
- Iyengar, S., V. M. Dilworth, S. J. Mick, P. C. Contreras, J. B. Monahan, T. S. Rao and P. L. Wood** (1990). Sigma receptors modulate both A9 and A10 dopaminergic neurons in the rat brain: functional interaction with NMDA receptors. *Brain Res* 524 (2): 322-6.
- Jaber, M., S. W. Robinson, C. Missale and M. G. Caron** (1996). Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* 35 (11): 1503-19.

- Jacob, S., R. S. Streeper, D. L. Fogt, J. Y. Hokama, H. J. Tritschler, G. J. Dietze and E. J. Henriksen** (1996). The antioxidant alpha-lipoic acid enhances insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes* 45 (8): 1024-9.
- Jacobs, B. L. and J. O. Langland** (1996). When two strands are better than one: the mediators and modulators of the cellular responses to double-stranded RNA. *Virology* 219 (2): 339-49.
- Jaeger, J., I. Bitter, P. Czobor and J. Volavka** (1990). The measurement of subjective experience in schizophrenia: the Subjective Deficit Syndrome Scale. *Compr Psychiatry* 31 (3): 216-26.
- Jeding, I., P. J. Evans, D. Akanmu, D. Dexter, J. D. Spencer, O. I. Aruoma, P. Jenner and B. Halliwell** (1995). Characterization of the potential antioxidant and pro-oxidant actions of some neuroleptic drugs. *Biochem Pharmacol* 49 (3): 359-65.
- Jenner, P., J. A. Pratt and C. D. Marsden** (1986). Mechanism of action of clonazepam in myoclonus in relation to effects on GABA and 5-HT. *Adv Neurol* 43 629-43.
- Jenner, P.** (1993). Altered mitochondrial function, iron metabolism and glutathione levels in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 146 6-13.
- Jeste, D. V., S. G. Potkin, S. Sinha, S. Feder and R. J. Wyatt** (1979). Tardive dyskinesia--reversible and persistent. *Arch Gen Psychiatry* 36 (5): 585-90.
- Jeste, D. V., J. P. Lacro, A. Bailey, E. Rockwell, M. J. Harris and M. P. Caligiuri** (1999). Lower incidence of tardive dyskinesia with risperidone compared with haloperidol in older patients. *J Am Geriatr Soc* 47 (6): 716-9.
- Jha, N., O. Jurma, G. Lalli, Y. Liu, E. H. Pettus, J. T. Greenamyre, R. M. Liu, H. J. Forman and J. K. Andersen** (2000). Glutathione depletion in PC12 results in selective inhibition of mitochondrial complex I activity. Implications for Parkinson's disease. *J Biol Chem* 275 (34): 26096-101.
- Jia, Z., S. Hallur, H. Zhu, Y. Li and H. P. Misra** (2008). Potent upregulation of glutathione and NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 by alpha-lipoic acid in human neuroblastoma SH-SY5Y cells: protection against neurotoxicant-elicited cytotoxicity. *Neurochem Res* 33 (5): 790-800.
- Jove, M., A. Planavila, R. M. Sanchez, M. Merlos, J. C. Laguna and M. Vazquez-Carrera** (2006). Palmitate induces tumor necrosis factor-alpha expression in C2C12 skeletal muscle cells by a mechanism involving protein kinase C and nuclear factor-kappaB activation. *Endocrinology* 147 (1): 552-61.
- Joyce, J. N., S. G. Goldsmith and E. V. Gurevich** (1997). Limbic circuits and monoamine receptors: dissecting the effects of antipsychotics from disease processes. *J Psychiatr Res* 31 (2): 197-217.
- Kamboj, A., R. Kiran and R. Sandhir** (2006). Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by N-acetylcysteine. *Exp Brain Res* 170 (4): 567-75.
- Kapur, S., R. Zipursky, C. Jones, G. Remington and S. Houle** (2000). Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157 (4): 514-20.
- Kapur, S., X. Langlois, P. Vinken, A. A. Megens, R. De Coster and J. S. Andrews** (2002). The differential effects of atypical antipsychotics on prolactin elevation are explained by their differential blood-brain disposition: a pharmacological analysis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 302 (3): 1129-34.

- Karlsson, P., L. Smith, L. Farde, C. Harnryd, G. Sedvall and F. A. Wiesel** (1995). Lack of apparent antipsychotic effect of the D1-dopamine receptor antagonist SCH39166 in acutely ill schizophrenic patients. *Psychopharmacology (Berl)* 121 (3): 309-16.
- Kay, S. R., A. Fiszbein and L. A. Opler** (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 13 (2): 261-76.
- Kebabian, J. W. and D. B. Calne** (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277 (5692): 93-6.
- Kegeles, L. S., A. Abi-Dargham, Y. Zea-Ponce, J. Rodenhiser-Hill, J. J. Mann, R. L. Van Heertum, T. B. Cooper, A. Carlsson and M. Laruelle** (2000). Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans: implications for schizophrenia. *Biol Psychiatry* 48 (7): 627-40.
- Kemmler, G., M. Hummer, C. Widschwendter and W. W. Fleischhacker** (2005). Dropout rates in placebo-controlled and active-control clinical trials of antipsychotic drugs: a meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 62 (12): 1305-12.
- Khan, M. M., D. R. Evans, V. Gunna, R. E. Scheffer, V. V. Parikh and S. P. Mahadik** (2002). Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophr Res* 58 (1): 1-10.
- Konick, L. C. and L. Friedman** (2001). Meta-analysis of thalamic size in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 49 (1): 28-38.
- Kornhuber, J., P. Riederer, G. P. Reynolds, H. Beckmann, K. Jellinger and E. Gabriel** (1989). 3H-spiperone binding sites in post-mortem brains from schizophrenic patients: relationship to neuroleptic drug treatment, abnormal movements, and positive symptoms. *J Neural Transm* 75 (1): 1-10.
- Kowalski, J., P. Blada, K. Kucia, A. Madej and Z. S. Herman** (2001). Neuroleptics normalize increased release of interleukin- 1 beta and tumor necrosis factor-alpha from monocytes in schizophrenia. *Schizophr Res* 50 (3): 169-75.
- Kronfol, Z. and D. G. Remick** (2000). Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry* 157 (5): 683-94.
- Kropp, S., V. Kern, K. Lange, D. Degner, G. Hajak, J. Kornhuber, E. Ruther, H. M. Emrich, U. Schneider and S. Bleich** (2005). Oxidative stress during treatment with first- and second-generation antipsychotics. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 17 (2): 227-31.
- Krystal, J. H., L. P. Karper, J. P. Seibyl, G. K. Freeman, R. Delaney, J. D. Bremner, G. R. Heninger, M. B. Bowers, Jr. and D. S. Charney** (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51 (3): 199-214.
- Kulagina, N. V. and A. C. Michael** (2003). Monitoring hydrogen peroxide in the extracellular space of the brain with amperometric microsenors. *Anal Chem* 75 (18): 4875-81.
- Kuribara, H.** (1995). Inhibition of methamphetamine sensitization by post-methamphetamine treatment with SCH 23390 or haloperidol. *Psychopharmacology (Berl)* 119 (1): 34-8.
- Kyriakis, J. M. and J. Avruch** (1996). Protein kinase cascades activated by stress and inflammatory cytokines. *Bioessays* 18 (7): 567-77.
- Lai, C. T. and P. H. Yu** (1997). R(-)-deprenyl potentiates dopamine-induced cytotoxicity toward catecholaminergic neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 142 (1): 186-91.

- Larouche, A., P. Berube, P. Sarret and S. Grignon** (2008). Subacute H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, but not poly(IC), upregulates dopamine D<sub>2</sub> receptors in retinoic acid differentiated SH-SY5Y neuroblastoma. *Synapse* 62 (1): 70-3.
- Laruelle, M., A. Abi-Dargham, C. H. van Dyck, R. Gil, C. D. D'Souza, J. Erdos, E. McCance, W. Rosenblatt, C. Fingado, S. S. Zoghbi, R. M. Baldwin, J. P. Seibyl, J. H. Krystal, D. S. Charney and R. B. Innis** (1996). Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (17): 9235-40.
- Laughton, M. J., B. Halliwell, P. J. Evans and J. R. Hoult** (1989). Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. Effects on lipid peroxidation, hydroxyl radical generation and bleomycin-dependent damage to DNA. *Biochem Pharmacol* 38 (17): 2859-65.
- Le Gall, J. R., S. Lemeshow and F. Saulnier** (1993). A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* 270 (24): 2957-63.
- Le Moine, C., E. Normand, A. F. Guitteny, B. Fouque, R. Teoule and B. Bloch** (1990). Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in rat forebrain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 (1): 230-4.
- Le Moine, C. and B. Bloch** (1995). D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J Comp Neurol* 355 (3): 418-26.
- Lee, S. H., Y. M. Kim, S. Yajima, J. M. Ha, B. J. Ha, O. S. Kim, K. Ohsawa and M. M. Mouradian** (2003). Genomic organization and promoter characterization of the murine dopamine receptor regulating factor (DRRF) gene. *Gene* 304 193-9.
- Lee, S. P., C. H. So, A. J. Rashid, G. Varghese, R. Cheng, A. J. Lanca, B. F. O'Dowd and S. R. George** (2004). Dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. *J Biol Chem* 279 (34): 35671-8.
- Leucht, S., T. R. Barnes, W. Kissling, R. R. Engel, C. Correll and J. M. Kane** (2003). Relapse prevention in schizophrenia with new-generation antipsychotics: a systematic review and exploratory meta-analysis of randomized, controlled trials. *Am J Psychiatry* 160 (7): 1209-22.
- Leucht, S., K. Wahlbeck, J. Hamann and W. Kissling** (2003). New generation antipsychotics versus low-potency conventional antipsychotics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 361 (9369): 1581-9.
- Leucht, S., C. Corves, D. Arbter, R. R. Engel, C. Li and J. M. Davis** (2009). Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. *Lancet* 373 (9657): 31-41.
- Lewis, D. A., T. Hashimoto and D. W. Volk** (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 6 (4): 312-24.
- Leysen, J. E., P. M. Janssen, A. Schotte, W. H. Luyten and A. A. Megens** (1993). Interaction of antipsychotic drugs with neurotransmitter receptor sites in vitro and in vivo in relation to pharmacological and clinical effects: role of 5HT<sub>2</sub> receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 112 (1 Suppl): S40-54.
- Leysen, J. E., P. M. Janssen, A. A. Megens and A. Schotte** (1994). Risperidone: a novel antipsychotic with balanced serotonin-dopamine antagonism, receptor occupancy profile, and pharmacologic activity. *J Clin Psychiatry* 55 Suppl 5-12.

- Li, X. M. and H. Xu** (2007). Evidence for neuroprotective effects of antipsychotic drugs: implications for the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 77: 107-42.
- Lidow, M. S., G. V. Williams and P. S. Goldman-Rakic** (1998). The cerebral cortex: a case for a common site of action of antipsychotics. *Trends Pharmacol Sci* 19 (4): 136-40.
- Lohr, J. B., R. Kuczenski, H. S. Bracha, M. Moir and D. V. Jeste** (1990). Increased indices of free radical activity in the cerebrospinal fluid of patients with tardive dyskinesia. *Biol Psychiatry* 28 (6): 535-9.
- Lohr, J. B. and K. Flynn** (1992). Smoking and schizophrenia. *Schizophr Res* 8 (2): 93-102.
- Lohr, J. B. and M. P. Caligiuri** (1996). A double-blind placebo-controlled study of vitamin E treatment of tardive dyskinesia. *J Clin Psychiatry* 57 (4): 167-73.
- Mackay, A. V., L. L. Iversen, M. Rossor, E. Spokes, E. Bird, A. Arregui, I. Creese and S. H. Synder** (1982). Increased brain dopamine and dopamine receptors in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 39 (9): 991-7.
- Mahadik, S. P. and S. Mukherjee** (1996). Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophr Res* 19 (1): 1-17.
- Mahadik, S. P. and R. E. Scheffer** (1996). Oxidative injury and potential use of antioxidants in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 55 (1-2): 45-54.
- Mahadik, S. P., S. Mukherjee, R. Scheffer, E. E. Correnti and J. S. Mahadik** (1998). Elevated plasma lipid peroxides at the onset of nonaffective psychosis. *Biol Psychiatry* 43 (9): 674-9.
- Mahadik, S. P., D. Evans and H. Lal** (2001). Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 25 (3): 463-93.
- Maitra, I., E. Serbinova, H. J. Tritschler and L. Packer** (1996). Stereospecific effects of R-lipoic acid on buthionine sulfoximine-induced cataract formation in newborn rats. *Biochem Biophys Res Commun* 221 (2): 422-9.
- Maker, H. S., C. Weiss and T. S. Brannan** (1986). Amine-mediated toxicity. The effects of dopamine, norepinephrine, 5-hydroxytryptamine, 6-hydroxydopamine, ascorbate, glutathione and peroxide on the in vitro activities of creatine and adenylate kinases in the brain of the rat. *Neuropharmacology* 25 (1): 25-32.
- Marchese, G., F. Bartholini, S. Ruiu, P. Casti, P. Saba, G. Gessa and L. Pani** (2002). Effect of the amisulpride isomers on rat catalepsy. *Eur J Pharmacol* 444 (1-2): 69-74.
- Mariani, E., M. C. Polidori, A. Cherubini and P. Mecocci** (2005). Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 827 (1): 65-75.
- Marsden, C. D. and P. Jenner** (1980). The pathophysiology of extrapyramidal side-effects of neuroleptic drugs. *Psychol Med* 10 (1): 55-72.
- Masserano, J. M., I. Baker, D. Venable, L. Gong, S. J. Zullo, C. R. Merrill and R. J. Wyatt** (2000). Dopamine induces cell death, lipid peroxidation and DNA base damage in a catecholaminergic cell line derived from the central nervous system. *Neurotox Res* 1 (3): 171-9.
- Matalon, R., D. A. Stumpf, K. Michals, R. D. Hart, J. K. Parks and S. I. Goodman** (1984). Lipoamide dehydrogenase deficiency with primary lactic acidosis: favorable response to treatment with oral lipoic acid. *J Pediatr* 104 (1): 65-9.

- Matthysse, S.** (1974). Dopamine and the pharmacology of schizophrenia: the state of the evidence. *J Psychiatr Res* 11 107-13.
- McCann, D. J. and T. P. Su** (1990). Haloperidol competitively inhibits the binding of (+)-[3H]SKF-10,047 to sigma sites. *Eur J Pharmacol* 180 (2-3): 361-4.
- McDonald, W. M., D. R. Sibley, B. F. Kilpatrick and M. G. Caron** (1984). Dopaminergic inhibition of adenylate cyclase correlates with high affinity agonist binding to anterior pituitary D2 dopamine receptors. *Mol Cell Endocrinol* 36 (3): 201-9.
- McGlashan, T. H. and W. S. Fenton** (1991). Classical subtypes for schizophrenia: literature review for DSM-IV. *Schizophr Bull* 17 (4): 609-32.
- Meador-Woodruff, J. H., A. Mansour, J. R. Bunzow, H. H. Van Tol, S. J. Watson, Jr. and O. Civelli** (1989). Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 (19): 7625-8.
- Melkersson, K. I., A. L. Hulting and A. J. Rane** (2001). Dose requirement and prolactin elevation of antipsychotics in male and female patients with schizophrenia or related psychoses. *Br J Clin Pharmacol* 51 (4): 317-24.
- Meltzer, H. Y.** (1989). Clinical studies on the mechanism of action of clozapine: the dopamine-serotonin hypothesis of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 99 Suppl S18-27.
- Meltzer, H. Y.** (1991). The mechanism of action of novel antipsychotic drugs. *Schizophr Bull* 17 (2): 263-87.
- Meltzer, H. Y.** (1995). The role of serotonin in schizophrenia and the place of serotonin-dopamine antagonist antipsychotics. *J Clin Psychopharmacol* 15 (1 Suppl 1): 2S-3S.
- Meltzer, H. Y., Z. Li, Y. Kaneda and J. Ichikawa** (2003). Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27 (7): 1159-72.
- Merrill, J. E.** (1992). Tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 and related cytokines in brain development: normal and pathological. *Dev Neurosci* 14 (1): 1-10.
- Meyer, U., J. Feldon, M. Schedlowski and B. K. Yee** (2005). Towards an immunoprecipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev* 29 (6): 913-47.
- Milgram, N. W., E. Head, S. C. Zicker, C. Ikeda-Douglas, H. Murphey, B. A. Muggenberg, C. T. Siwak, P. D. Tapp, S. R. Lowry and C. W. Cotman** (2004). Long-term treatment with antioxidants and a program of behavioral enrichment reduces age-dependent impairment in discrimination and reversal learning in beagle dogs. *Exp Gerontol* 39 (5): 753-65.
- Miller, D. W. and E. D. Abercrombie** (1996). Effects of MK-801 on spontaneous and amphetamine-stimulated dopamine release in striatum measured with in vivo microdialysis in awake rats. *Brain Res Bull* 40 (1): 57-62.
- Miller, E. R., 3rd, R. Pastor-Barriuso, D. Dalal, R. A. Riemersma, L. J. Appel and E. Guallar** (2005). Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 142 (1): 37-46.
- Missale, C., S. R. Nash, S. W. Robinson, M. Jaber and M. G. Caron** (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78 (1): 189-225.
- Mitchell, I. J., A. C. Cooper, M. R. Griffiths and A. J. Cooper** (2002). Acute administration of haloperidol induces apoptosis of neurones in the striatum and substantia nigra in the rat. *Neuroscience* 109 (1): 89-99.



- Miyamoto, S., G. E. Duncan, C. E. Marx and J. A. Lieberman** (2005). Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol Psychiatry* 10 (1): 79-104.
- Mohn, A. R., W. D. Yao and M. G. Caron** (2004). Genetic and genomic approaches to reward and addiction. *Neuropharmacology* 47 Suppl 1 101-10.
- Molitor, J. A., D. W. Ballard and W. C. Greene** (1991). Kappa B-specific DNA binding proteins are differentially inhibited by enhancer mutations and biological oxidation. *New Biol* 3 (10): 987-96.
- Monsma, F. J., Jr., L. D. McVittie, C. R. Gerfen, L. C. Mahan and D. R. Sibley** (1989). Multiple D2 dopamine receptors produced by alternative RNA splicing. *Nature* 342 (6252): 926-9.
- Morgenstern, H. and W. M. Glazer** (1993). Identifying risk factors for tardive dyskinesia among long-term outpatients maintained with neuroleptic medications. Results of the Yale Tardive Dyskinesia Study. *Arch Gen Psychiatry* 50 (9): 723-33.
- Muller, M. J., B. Regenbogen, S. Hartter, F. X. Eich and C. Hiemke** (2007). Therapeutic drug monitoring for optimizing amisulpride therapy in patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res* 41 (8): 673-9.
- Muller, N. and M. Ackenheil** (1998). Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 22 (1): 1-33.
- Muller, N., M. Riedel, M. Ackenheil and M. J. Schwarz** (1999). The role of immune function in schizophrenia: an overview. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 4 62-8.
- Naidu, P. S. and S. K. Kulkarni** (2001). Possible involvement of prostaglandins in haloperidol-induced orofacial dyskinesia in rats. *Eur J Pharmacol* 430 (2-3): 295-8.
- Naidu, P. S., A. Singh, P. Kaur, R. Sandhir and S. K. Kulkarni** (2003). Possible mechanism of action in melatonin attenuation of haloperidol-induced orofacial dyskinesia. *Pharmacol Biochem Behav* 74 (3): 641-8.
- Nair, V. D., H. B. Niznik and R. K. Mishra** (1996). NMDA and dopamine D2L receptor interaction in human neuroblastoma SH-SY5Y cells involves tyrosine kinase and phosphatase. *Neuroreport* 7 (18): 2937-40.
- Nakashima, I., M. Kato, A. A. Akhand, H. Suzuki, K. Takeda, K. Hossain and Y. Kawamoto** (2002). Redox-linked signal transduction pathways for protein tyrosine kinase activation. *Antioxid Redox Signal* 4 (3): 517-31.
- Nawa, H., M. Takahashi and P. H. Patterson** (2000). Cytokine and growth factor involvement in schizophrenia--support for the developmental model. *Mol Psychiatry* 5 (6): 594-603.
- Ng, F., M. Berk, O. Dean and A. I. Bush** (2008). Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol* 11 (6): 851-76.
- Nicklas, W. J., I. Vyas and R. E. Heikkila** (1985). Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *Life Sci* 36 (26): 2503-8.
- Nissbrandt, H., E. Sundstrom, G. Jonsson, S. Hjorth and A. Carlsson** (1989). Synthesis and release of dopamine in rat brain: comparison between substantia nigra pars compacta, pars reticulata, and striatum. *J Neurochem* 52 (4): 1170-82.

- Nordstrom, A. L., L. Farde, L. Eriksson and C. Halldin** (1995). No elevated D2 dopamine receptors in neuroleptic-naïve schizophrenic patients revealed by positron emission tomography and [<sup>11</sup>C]N-methylspiperone. *Psychiatry Res* 61 (2): 67-83.
- Olafsdottir, K., G. A. Pascoe and D. J. Reed** (1988). Mitochondrial glutathione status during Ca<sup>2+</sup> ionophore-induced injury to isolated hepatocytes. *Arch Biochem Biophys* 263 (1): 226-35.
- Olney, J. W.** (1990). Excitotoxic amino acids and neuropsychiatric disorders. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30 47-71.
- Orth, M. and A. H. Schapira** (2002). Mitochondrial involvement in Parkinson's disease. *Neurochem Int* 40 (6): 533-41.
- Ozawa, K., K. Hashimoto, T. Kishimoto, E. Shimizu, H. Ishikura and M. Iyo** (2006). Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive impairment in the offspring: a neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59 (6): 546-54.
- Packer, L., E. H. Witt and H. J. Tritschler** (1995). alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med* 19 (2): 227-50.
- Packer, L., H. J. Tritschler and K. Wessel** (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22 (1-2): 359-78.
- Panigrahi, M., Y. Sadguna, B. R. Shivakumar, S. V. Kolluri, S. Roy, L. Packer and V. Ravindranath** (1996). alpha-Lipoic acid protects against reperfusion injury following cerebral ischemia in rats. *Brain Res* 717 (1-2): 184-8.
- Parikh, V., M. M. Khan and S. P. Mahadik** (2003). Differential effects of antipsychotics on expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. *J Psychiatr Res* 37 (1): 43-51.
- Paulson, G. W.** (2005). Historical comments on tardive dyskinesia: a neurologist's perspective. *J Clin Psychiatry* 66 (2): 260-4.
- Peet, M., J. Laugharne, N. Rangarajan and G. Reynolds** (1993). Tardive dyskinesia. *Hosp Community Psychiatry* 44 (8): 795.
- Penugonda, S., S. Mare, G. Goldstein, W. A. Banks and N. Ercal** (2005). Effects of N-acetylcysteine amide (NACA), a novel thiol antioxidant against glutamate-induced cytotoxicity in neuronal cell line PC12. *Brain Res* 1056 (2): 132-8.
- Petersen Shay, K., R. F. Moreau, E. J. Smith and T. M. Hagen** (2008). Is alpha-lipoic acid a scavenger of reactive oxygen species in vivo? Evidence for its initiation of stress signaling pathways that promote endogenous antioxidant capacity. *IUBMB Life* 60 (6): 362-7.
- Phillis, J. W.** (1994). A "radical" view of cerebral ischemic injury. *Prog Neurobiol* 42 (4): 441-8.
- Pierre, P. J. and P. Vezina** (1998). D1 dopamine receptor blockade prevents the facilitation of amphetamine self-administration induced by prior exposure to the drug. *Psychopharmacology (Berl)* 138 (2): 159-66.
- Pollmacher, T., M. Haack, A. Schuld, T. Kraus and D. Hinze-Selch** (2000). Effects of antipsychotic drugs on cytokine networks. *J Psychiatr Res* 34 (6): 369-82.
- Post, A., F. Holsboer and C. Behl** (1998). Induction of NF-kappaB activity during haloperidol-induced oxidative toxicity in clonal hippocampal cells: suppression of NF-kappaB and neuroprotection by antioxidants. *J Neurosci* 18 (20): 8236-46.

- Potvin, S., E. Stip, A. A. Sepehry, A. Gendron, R. Bah and E. Kouassi** (2008). Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 63 (8): 801-8.
- Rafalowska, U., G. J. Liu and R. A. Floyd** (1989). Peroxidation induced changes in synaptosomal transport of dopamine and gamma-aminobutyric acid. *Free Radic Biol Med* 6 (5): 485-92.
- Raja, M.** (1995). Tardive dystonia. Prevalence, risk factors, and comparison with tardive dyskinesia in a population of 200 acute psychiatric inpatients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 245 (3): 145-51.
- Ralph, R. J., G. B. Varty, M. A. Kelly, Y. M. Wang, M. G. Caron, M. Rubinstein, D. K. Grandy, M. J. Low and M. A. Geyer** (1999). The dopamine D2, but not D3 or D4, receptor subtype is essential for the disruption of prepulse inhibition produced by amphetamine in mice. *J Neurosci* 19 (11): 4627-33.
- Ravindranath, V. and D. J. Reed** (1990). Glutathione depletion and formation of glutathione-protein mixed disulfide following exposure of brain mitochondria to oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 169 (3): 1075-9.
- Reddy, R. D. and J. K. Yao** (1996). Free radical pathology in schizophrenia: a review. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 55 (1-2): 33-43.
- Regier, D. A., M. E. Farmer, D. S. Rae, B. Z. Locke, S. J. Keith, L. L. Judd and F. K. Goodwin** (1990). Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse. Results from the Epidemiologic Catchment Area (ECA) Study. *JAMA* 264 (19): 2511-8.
- Reinke, A., M. R. Martins, M. S. Lima, J. C. Moreira, F. Dal-Pizzol and J. Quevedo** (2004). Haloperidol and clozapine, but not olanzapine, induces oxidative stress in rat brain. *Neurosci Lett* 372 (1-2): 157-60.
- Reynolds, G. P.** (1989). Beyond the dopamine hypothesis. The neurochemical pathology of schizophrenia. *Br J Psychiatry* 155 305-16.
- Robinson, C. E., A. Keshavarzian, D. S. Pasco, T. O. Frommel, D. H. Winship and E. W. Holmes** (1999). Determination of protein carbonyl groups by immunoblotting. *Anal Biochem* 266 (1): 48-57.
- Rollema, H., M. Skolnik, J. D'Engelbronner, K. Igarashi, E. Usuki and N. Castagnoli, Jr.** (1994). MPP(+)-like neurotoxicity of a pyridinium metabolite derived from haloperidol: in vivo microdialysis and in vitro mitochondrial studies. *J Pharmacol Exp Ther* 268 (1): 380-7.
- Ross, B. M.** (2003). Phospholipid and eicosanoid signaling disturbances in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 69 (6): 407-12.
- Rothermundt, M., V. Arolt, M. Peters, H. Gutbrodt, J. Fenker, A. Kersting and H. Kirchner** (2001). Inflammatory markers in major depression and melancholia. *J Affect Disord* 63 (1-3): 93-102.
- Rotrosen, J., A. D. Miller, D. Mandio, L. J. Traficante and S. Gershon** (1980). Prostaglandins, platelets, and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 37 (9): 1047-54.
- Ryu, H., J. Lee, K. Zaman, J. Kubilis, R. J. Ferrante, B. D. Ross, R. Neve and R. R. Ratan** (2003). Sp1 and Sp3 are oxidative stress-inducible, antideath transcription factors in cortical neurons. *J Neurosci* 23 (9): 3597-606.
- Sachdev, P., T. Saharov and S. Cathcart** (1999). The preventative role of antioxidants (selegiline and vitamin E) in a rat model of tardive dyskinesia. *Biol Psychiatry* 46 (12): 1672-81.

- Sagara, Y.** (1998). Induction of reactive oxygen species in neurons by haloperidol. *J Neurochem* 71 (3): 1002-12.
- Samaha, A. N., P. Seeman, J. Stewart, H. Rajabi and S. Kapur** (2007). "Breakthrough" dopamine supersensitivity during ongoing antipsychotic treatment leads to treatment failure over time. *J Neurosci* 27 (11): 2979-86.
- Sasaki, H., K. Hashimoto, T. Inada, S. Fukui and M. Iyo** (1995). Suppression of orofacial movements by rolipram, a cAMP phosphodiesterase inhibitor, in rats chronically treated with haloperidol. *Eur J Pharmacol* 282 (1-3): 71-6.
- Schaefer, M., M. A. Engelbrecht, O. Gut, B. L. Fiebich, J. Bauer, F. Schmidt, H. Grunze and K. Lieb** (2002). Interferon alpha (IFNalpha) and psychiatric syndromes: a review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26 (4): 731-46.
- Schisler, N. J. and S. M. Singh** (1989). Effect of ethanol in vivo on enzymes which detoxify oxygen free radicals. *Free Radic Biol Med* 7 (2): 117-23.
- Schmidt, N. and B. Ferger** (2001). Neurochemical findings in the MPTP model of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 108 (11): 1263-82.
- Schoemaker, H., Y. Claustre, D. Fage, L. Rouquier, K. Chergui, O. Curet, A. Oblin, F. Gonon, C. Carter, J. Benavides and B. Scatton** (1997). Neurochemical characteristics of amisulpride, an atypical dopamine D2/D3 receptor antagonist with both presynaptic and limbic selectivity. *J Pharmacol Exp Ther* 280 (1): 83-97.
- Schotte, A., P. F. Janssen, W. Gommeren, W. H. Luyten, P. Van Gompel, A. S. Lesage, K. De Loore and J. E. Leysen** (1996). Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. *Psychopharmacology (Berl)* 124 (1-2): 57-73.
- Schroder, J., S. Silvestri, B. Bubeck, M. Karr, S. Demisch, S. Scherrer, F. J. Geider and H. Sauer** (1998). D2 dopamine receptor up-regulation, treatment response, neurological soft signs, and extrapyramidal side effects in schizophrenia: a follow-up study with 123I-iodobenzamide single photon emission computed tomography in the drug-naive state and after neuroleptic treatment. *Biol Psychiatry* 43 (9): 660-5.
- Schulz, J. B., J. Lindenau, J. Seyfried and J. Dichgans** (2000). Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem* 267 (16): 4904-11.
- Schwartz, R. D., P. Skolnick and S. M. Paul** (1988). Regulation of gamma-aminobutyric acid/barbiturate receptor-gated chloride ion flux in brain vesicles by phospholipase A2: possible role of oxygen radicals. *J Neurochem* 50 (2): 565-71.
- Scott, B. C., O. I. Aruoma, P. J. Evans, C. O'Neill, A. Van der Vliet, C. E. Cross, H. Tritschler and B. Halliwell** (1994). Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic Res* 20 (2): 119-33.
- Seeman, P., M. Chau-Wong, J. Tedesco and K. Wong** (1975). Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72 (11): 4376-80.
- Seeman, P., T. Lee, M. Chau-Wong and K. Wong** (1976). Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 261 (5562): 717-9.
- Seeman, P.** (1987). Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse* 1 (2): 133-52.
- Seeman, P., N. H. Bzowej, H. C. Guan, C. Bergeron, G. P. Reynolds, E. D. Bird, P. Riederer, K. Jellinger and W. W. Tourtellotte** (1987). Human brain D1 and D2 dopamine receptors in schizophrenia, Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's diseases. *Neuropsychopharmacology* 1 (1): 5-15.

- Seeman, P. and H. B. Niznik** (1990). Dopamine receptors and transporters in Parkinson's disease and schizophrenia. *Faseb J* 4 (10): 2737-44.
- Seeman, P.** (1992). Dopamine receptor sequences. Therapeutic levels of neuroleptics occupy D2 receptors, clozapine occupies D4. *Neuropsychopharmacology* 7 (4): 261-84.
- Seeman, P. and H. H. Van Tol** (1994). Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 15 (7): 264-70.
- Seeman, P., R. Corbett and H. H. Van Tol** (1997). Atypical neuroleptics have low affinity for dopamine D2 receptors or are selective for D4 receptors. *Neuropsychopharmacology* 16 (2): 93-110; discussion 111-35.
- Seeman, P. and T. Talerico** (1999). Rapid release of antipsychotic drugs from dopamine D2 receptors: an explanation for low receptor occupancy and early clinical relapse upon withdrawal of clozapine or quetiapine. *Am J Psychiatry* 156 (6): 876-84.
- Seeman, P. and S. Kapur** (2000). Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 (14): 7673-5.
- Seeman, P.** (2002). Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry* 47 (1): 27-38.
- Seeman, P.** (2005). An update of fast-off dopamine D2 atypical antipsychotics. *Am J Psychiatry* 162 (10): 1984-5.
- Seeman, P., D. Weinshenker, R. Quirion, L. K. Srivastava, S. K. Bhardwaj, D. K. Grandy, R. T. Premont, T. D. Sotnikova, P. Boksa, M. El-Ghundi, F. O'Dowd B, S. R. George, M. L. Perreault, P. T. Mannisto, S. Robinson, R. D. Palmiter and T. Talerico** (2005). Dopamine supersensitivity correlates with D2High states, implying many paths to psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 (9): 3513-8.
- Seeman, P., J. Schwarz, J. F. Chen, H. Szechtman, M. Perreault, G. S. McKnight, J. C. Roder, R. Quirion, P. Boksa, L. K. Srivastava, K. Yanai, D. Weinshenker and T. Sumiyoshi** (2006). Psychosis pathways converge via D2high dopamine receptors. *Synapse* 60 (4): 319-46.
- Segura-Aguilar, J., D. Metodiewa and C. J. Welch** (1998). Metabolic activation of dopamine o-quinones to o-semiquinones by NADPH cytochrome P450 reductase may play an important role in oxidative stress and apoptotic effects. *Biochim Biophys Acta* 1381 (1): 1-6.
- Sharma, T. and D. Mockler** (1998). The cognitive efficacy of atypical antipsychotics in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 18 (2 Suppl 1): 12S-9S.
- Shenton, M. E., C. C. Dickey, M. Frumin and R. W. McCarley** (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 49 (1-2): 1-52.
- Shibuya, H., H. Mori and M. Toru** (1992). Sigma receptors in schizophrenic cerebral cortices. *Neurochem Res* 17 (10): 983-90.
- Shivakumar, B. R. and V. Ravindranath** (1992). Oxidative stress induced by administration of the neuroleptic drug haloperidol is attenuated by higher doses of haloperidol. *Brain Res* 595 (2): 256-62.
- Shivakumar, B. R. and V. Ravindranath** (1993). Oxidative stress and thiol modification induced by chronic administration of haloperidol. *J Pharmacol Exp Ther* 265 (3): 1137-41.
- Sigmundson, H. K.** (1994). Pharmacotherapy of schizophrenia: a review. *Can J Psychiatry* 39 (9 Suppl 2): S70-5.
- Simonian, N. A. and J. T. Coyle** (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36 83-106.

- Simopoulos, A. P.** (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 54 (3): 438-63.
- Simpson, G. M. and J. W. Angus** (1970). A rating scale for extrapyramidal side effects. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 212 11-9.
- Sipos, I., L. Tretter and V. Adam-Vizi** (2003). The production of reactive oxygen species in intact isolated nerve terminals is independent of the mitochondrial membrane potential. *Neurochem Res* 28 (10): 1575-81.
- Skoblenick, K. J., J. M. Castellano, R. M. Rogoza, B. A. Dyck, N. Thomas, J. P. Gabriele, V. Z. Chong and R. K. Mishra** (2006). Translocation of AIF in the human and rat striatum following protracted haloperidol, but not clozapine treatment. *Apoptosis* 11 (5): 663-72.
- Soares, K. V. and J. J. McGrath** (1999). The treatment of tardive dyskinesia--a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res* 39 (1): 1-16; discussion 17-8.
- Song, X. Q., L. X. Lv, W. Q. Li, Y. H. Hao and J. P. Zhao** (2009). The interaction of nuclear factor-kappa B and cytokines is associated with schizophrenia. *Biol Psychiatry* 65 (6): 481-8.
- Sotnikova, T. D., J. M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov and M. G. Caron** (2006). Molecular biology, pharmacology and functional role of the plasma membrane dopamine transporter. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5 (1): 45-56.
- Soyka, M., B. Bondy, B. Peuker and M. Ackenheil** (1994). Spiperone binding capacity in lymphocytes of patients with alcohol- and drug-induced psychosis: preliminary results. *J Stud Alcohol* 55 (4): 503-7.
- Stadtman, E. R.** (1990). Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 9 (4): 315-25.
- Stanniland, C. and D. Taylor** (2000). Tolerability of atypical antipsychotics. *Drug Saf* 22 (3): 195-214.
- Starr, S., L. B. Kozell and K. A. Neve** (1995). Drug-induced up-regulation of dopamine D2 receptors on cultured cells. *J Neurochem* 65 (2): 569-77.
- Steullet, P., H. C. Neijt, M. Cuenod and K. Q. Do** (2006). Synaptic plasticity impairment and hypofunction of NMDA receptors induced by glutathione deficit: relevance to schizophrenia. *Neuroscience* 137 (3): 807-19.
- Stoll, S., H. Hartmann, S. A. Cohen and W. E. Muller** (1993). The potent free radical scavenger alpha-lipoic acid improves memory in aged mice: putative relationship to NMDA receptor deficits. *Pharmacol Biochem Behav* 46 (4): 799-805.
- Stoll, S., A. Rostock, R. Bartsch, E. Korn, A. Meichelbock and W. E. Muller** (1994). The potent free radical scavenger alpha-lipoic acid improves cognition in rodents. *Ann N Y Acad Sci* 717 122-8.
- Subramanyam, B., H. Rollema, T. Woolf and N. Castagnoli, Jr.** (1990). Identification of a potentially neurotoxic pyridinium metabolite of haloperidol in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 166 (1): 238-44.
- Suh, J. H., E. T. Shigeno, J. D. Morrow, B. Cox, A. E. Rocha, B. Frei and T. M. Hagen** (2001). Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)-( $\alpha$ )-lipoic acid. *Faseb J* 15 (3): 700-6.
- Sum, C. S., N. Pyo and J. W. Wells** (2001). Apparent capacity of cardiac muscarinic receptors for different radiolabeled antagonists. *Biochem Pharmacol* 62 (7): 829-51.
- Surmeier, D. J., W. J. Song and Z. Yan** (1996). Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 16 (20): 6579-91.

- Sutton, L. P., D. Honardoust, J. Mouyal, N. Rajakumar and W. J. Rushlow** (2007). Activation of the canonical Wnt pathway by the antipsychotics haloperidol and clozapine involves dishevelled-3. *J Neurochem* 102 (1): 153-69.
- Svenningsson, P., E. T. Tzavara, R. Carruthers, I. Rachleff, S. Wattler, M. Nehls, D. L. McKinzie, A. A. Fienberg, G. G. Nomikos and P. Greengard** (2003). Diverse psychotomimetics act through a common signaling pathway. *Science* 302 (5649): 1412-5.
- Swerdlow, N. R., V. Bakshi, M. Waikar, N. Taaid and M. A. Geyer** (1998). Seroquel, clozapine and chlorpromazine restore sensorimotor gating in ketamine-treated rats. *Psychopharmacology (Berl)* 140 (1): 75-80.
- Tang, L. H. and E. Aizenman** (1993). Allosteric modulation of the NMDA receptor by dihydrolipoic and lipoic acid in rat cortical neurons in vitro. *Neuron* 11 (5): 857-63.
- Thaakur, S. and G. Himabindhu** (2009). Effect of alpha lipoic acid on the tardive dyskinesia and oxidative stress induced by haloperidol in rats. *J Neural Transm* 116 (7): 807-14.
- Thaakur, S. R. and B. Jyothi** (2007). Effect of spirulina maxima on the haloperidol induced tardive dyskinesia and oxidative stress in rats. *J Neural Transm* 114 (9): 1217-25.
- Thaker, G. K., D. E. Ross, S. L. Cassady, H. M. Adami, D. LaPorte, D. R. Medoff and A. Lahti** (1998). Smooth pursuit eye movements to extraretinal motion signals: deficits in relatives of patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 55 (9): 830-6.
- Theoharides, T. C., C. Weinkauff and P. Conti** (2004). Brain cytokines and neuropsychiatric disorders. *J Clin Psychopharmacol* 24 (6): 577-81.
- Toledano, M. B. and W. J. Leonard** (1991). Modulation of transcription factor NF-kappa B binding activity by oxidation-reduction in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88 (10): 4328-32.
- Traber, M. G. and J. Atkinson** (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 43 (1): 4-15.
- Tsai, G., D. C. Goff, R. W. Chang, J. Flood, L. Baer and J. T. Coyle** (1998). Markers of glutamatergic neurotransmission and oxidative stress associated with tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 155 (9): 1207-13.
- Tune, L. E., D. F. Wong, G. Pearlson, M. Strauss, T. Young, E. K. Shaya, R. F. Dannals, A. A. Wilson, H. T. Ravert, J. Sapp and et al.** (1993). Dopamine D2 receptor density estimates in schizophrenia: a positron emission tomography study with 11C-N-methylspiperone. *Psychiatry Res* 49 (3): 219-37.
- Uberti, D., L. Piccioni, A. Colzi, D. Bravi, P. L. Canonico and M. Memo** (2002). Pergolide protects SH-SY5Y cells against neurodegeneration induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Eur J Pharmacol* 434 (1-2): 17-20.
- Ukai, W., H. Ozawa, M. Tateno, E. Hashimoto and T. Saito** (2004). Neurotoxic potential of haloperidol in comparison with risperidone: implication of Akt-mediated signal changes by haloperidol. *J Neural Transm* 111 (6): 667-81.
- Urakubo, A., L. F. Jarskog, J. A. Lieberman and J. H. Gilmore** (2001). Prenatal exposure to maternal infection alters cytokine expression in the placenta, amniotic fluid, and fetal brain. *Schizophr Res* 47 (1): 27-36.
- Usiello, A., J. H. Baik, F. Rouge-Pont, R. Picetti, A. Dierich, M. LeMeur, P. V. Piazza and E. Borrelli** (2000). Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature* 408 (6809): 199-203.

- Valdenaire, O., P. Vernier, M. Maus, J. B. Dumas Milne Edwards and J. Mallet** (1994). Transcription of the rat dopamine-D2-receptor gene from two promoters. *Eur J Biochem* 220 (2): 577-84.
- Valjent, E., J. C. Corvol, C. Pages, M. J. Besson, R. Maldonado and J. Caboche** (2000). Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *J Neurosci* 20 (23): 8701-9.
- Valjent, E., J. C. Corvol, J. M. Trzaskos, J. A. Girault and D. Herve** (2006). Role of the ERK pathway in psychostimulant-induced locomotor sensitization. *BMC Neurosci* 7 20.
- Valko, M., D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur and J. Telser** (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39 (1): 44-84.
- Vallar, L. and J. Meldolesi** (1989). Mechanisms of signal transduction at the dopamine D2 receptor. *Trends Pharmacol Sci* 10 (2): 74-7.
- van Rossum, J. M.** (1967). [The effect of psychostimulants on the central and autonomic nervous system]. *Schweiz Z Sportmed* 15 (1): 26-40.
- Velligan, D. I., J. Newcomer, J. Pultz, J. Csernansky, A. L. Hoff, R. Mahurin and A. L. Miller** (2002). Does cognitive function improve with quetiapine in comparison to haloperidol? *Schizophr Res* 53 (3): 239-48.
- Vernaleken, I., T. Siessmeier, H. G. Buchholz, S. Hartter, C. Hiemke, P. Stoeter, F. Rosch, P. Bartenstein and G. Grunder** (2004). High striatal occupancy of D2-like dopamine receptors by amisulpride in the brain of patients with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 7 (4): 421-30.
- Vilner, B. J., B. R. de Costa and W. D. Bowen** (1995). Cytotoxic effects of sigma ligands: sigma receptor-mediated alterations in cellular morphology and viability. *J Neurosci* 15 (1 Pt 1): 117-34.
- Votyakova, T. V. and I. J. Reynolds** (2001). DeltaPsi(m)-Dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. *J Neurochem* 79 (2): 266-77.
- Waddington, J. L., A. J. Cross, S. J. Gamble and R. C. Bourne** (1983). Spontaneous orofacial dyskinesia and dopaminergic function in rats after 6 months of neuroleptic treatment. *Science* 220 (4596): 530-2.
- Wainwright, P. E.** (1992). Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? *Neurosci Biobehav Rev* 16 (2): 193-205.
- Walker, J. M., W. D. Bowen, F. O. Walker, R. R. Matsumoto, B. De Costa and K. C. Rice** (1990). Sigma receptors: biology and function. *Pharmacol Rev* 42 (4): 355-402.
- Wang, A. L., J. P. Wang, H. Wang, Y. H. Chen, L. Zhao, L. S. Wang, W. Wei and D. X. Xu** (2006). A dual effect of N-acetylcysteine on acute ethanol-induced liver damage in mice. *Hepatol Res* 34 (3): 199-206.
- Wang, J., J. C. Miller and A. J. Friedhoff** (1997). Differential regulation of D2 receptor gene expression by transcription factor AP-1 in cultured cells. *J Neurosci Res* 50 (1): 23-31.
- Wang, J., S. Kannan, H. Li and M. F. Khan** (2005). Cytokine gene expression and activation of NF-kappa B in aniline-induced splenic toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 203 (1): 36-44.
- Wayner, D. D., G. W. Burton, K. U. Ingold and S. Locke** (1985). Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood



plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. *FEBS Lett* 187 (1): 33-7.

**Wayner, D. D., G. W. Burton, K. U. Ingold, L. R. Barclay and S. J. Locke** (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 924 (3): 408-19.

**Weinberger, D. R.** (1987). Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 44 (7): 660-9.

**Weiner, D. M., A. I. Levey, R. K. Sunahara, H. B. Niznik, B. F. O'Dowd, P. Seeman and M. R. Brann** (1991). D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 (5): 1859-63.

**Weissman, A. D., M. F. Casanova, J. E. Kleinman and E. B. De Souza** (1991). PCP and sigma receptors in brain are not altered after repeated exposure to PCP in humans. *Neuropsychopharmacology* 4 (2): 95-102.

**Westerink, B. H. and J. B. de Vries** (1989). On the mechanism of neuroleptic induced increase in striatal dopamine release: brain dialysis provides direct evidence for mediation by autoreceptors localized on nerve terminals. *Neurosci Lett* 99 (1-2): 197-202.

**Willems, J. M., D. G. Lambert and H. R. Griffiths** (1993). Suitability of B65 and SH-SY5Y neuroblastoma cells as models for 'in vitro' neurotoxicity testing. *Biochem Soc Trans* 21 (4): 452S.

**Willems, J. M., D. G. Lambert, J. Lunec and H. R. Griffiths** (1995). Studies on the neurotoxicity of 6,7-dihydroxy-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (salsolinol) in SH-SY5Y cells. *Eur J Pharmacol* 293 (4): 319-26.

**Wong, D. F., G. D. Pearlson, L. E. Tune, L. T. Young, C. C. Meltzer, R. F. Dannals, H. T. Ravert, J. Reith, M. J. Kuhar and A. Gjedde** (1997). Quantification of neuroreceptors in the living human brain: IV. Effect of aging and elevations of D2-like receptors in schizophrenia and bipolar illness. *J Cereb Blood Flow Metab* 17 (3): 331-42.

**Wright, P. and R. M. Murray** (1993). Schizophrenia: prenatal influenza and autoimmunity. *Ann Med* 25 (5): 497-502.

**Xiberas, X., J. L. Martinot, L. Mallet, E. Artiges, H. C. Loc, B. Maziere and M. L. Paillere-Martinot** (2001). Extrastriatal and striatal D(2) dopamine receptor blockade with haloperidol or new antipsychotic drugs in patients with schizophrenia. *Br J Psychiatry* 179 503-8.

**Yao, J. K., P. Yasaei and D. P. van Kammen** (1992). Increased turnover of platelet phosphatidylinositol in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 46 (1): 39-46.

**Yao, J. K., R. Reddy, L. G. McElhinny and D. P. van Kammen** (1998). Effects of haloperidol on antioxidant defense system enzymes in schizophrenia. *J Psychiatr Res* 32 (6): 385-91.

**Yao, J. K., R. D. Reddy and D. P. van Kammen** (2001). Oxidative damage and schizophrenia: an overview of the evidence and its therapeutic implications. *CNS Drugs* 15 (4): 287-310.

**Yokoyama, H., N. Kasai, Y. Ueda, R. Niwa, R. Konaka, N. Mori, N. Tsuchihashi, T. Matsue, H. Ohya-Nishiguchi and H. Kamada** (1998). In vivo analysis of hydrogen peroxide and lipid radicals in the striatum of rats under long-term administration of a neuroleptic. *Free Radic Biol Med* 24 (6): 1056-60.

- Zalcman, S., J. M. Green-Johnson, L. Murray, D. M. Nance, D. Dyck, H. Anisman and A. H. Greenberg** (1994). Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2 and -6. *Brain Res* 643 (1-2): 40-9.
- Zhang, F. and G. Dryhurst** (1994). Effects of L-cysteine on the oxidation chemistry of dopamine: new reaction pathways of potential relevance to idiopathic Parkinson's disease. *J Med Chem* 37 (8): 1084-98.
- Zhang, J., L. A. Chiodo, J. G. Wettstein, J. L. Junien and A. S. Freeman** (1993). Repeated administration of Sigma ligands alters the population activity of rat midbrain dopaminergic neurons. *Synapse* 13 (3): 223-30.
- Zhang, W., H. Tilson, M. K. Stachowiak and J. S. Hong** (1989). Repeated haloperidol administration changes basal release of striatal dopamine and subsequent response to haloperidol challenge. *Brain Res* 484 (1-2): 389-92.
- Zhang, W. J. and B. Frei** (2001). Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *Faseb J* 15 (13): 2423-32.
- Zhao, Z., R. G. Robinson, S. F. Barnett, D. Defeo-Jones, R. E. Jones, G. D. Hartman, H. E. Huber, M. E. Duggan and C. W. Lindsley** (2008). Development of potent, allosteric dual Akt1 and Akt2 inhibitors with improved physical properties and cell activity. *Bioorg Med Chem Lett* 18 (1): 49-53.
- Ziegler, D. and F. A. Gries** (1997). Alpha-lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral and cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes* 46 Suppl 2 S62-6.
- Ziegler, D., A. Ametov, A. Barinov, P. J. Dyck, I. Gurieva, P. A. Low, U. Munzel, N. Yakhno, I. Raz, M. Novosadova, J. Maus and R. Samigullin** (2006). Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes Care* 29 (11): 2365-70.
- Zimmer, G., L. Mainka and E. Kruger** (1991). Dihydrolipoic acid activates oligomycin-sensitive thiol groups and increases ATP synthesis in mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 288 (2): 609-13.
- Zivkovic, B., A. Guidotti, A. Revuelta and E. Costa** (1975). Effect of thioridazine, clozapine and other antipsychotics on the kinetic state of tyrosine hydroxylase and on the turnover rate of dopamine in striatum and nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther* 194 (1): 37-46.

## 9. Annexes

### 9.1. Publications et communications découlant du projet

L'ouvrage présenté ici est basé sur un article soumis. Les résultats décrits dans ce mémoire ont été présentés par communications affichées ou orales dans le cadre de congrès scientifiques.

#### Publication :

Deslauriers, J., Lefrançois, M., Larouche, A., Sarret, P., Grignon, S. (2010) Antipsychotic-induced DRD2 up-regulation and its prevention by alpha-lipoic acid in SH-SY5Y neuroblastoma cells. Article soumis : Synapse.

#### Communications :

##### - Communications affichées :

Deslauriers, J., Larouche, A., Sarret, P., Grignon, S. Oxidative phenomena underlying antipsychotics-induced dopamine D2 receptors up-regulation. 4<sup>e</sup> congrès annuel de la *Canadian Association for Neuroscience*, Ottawa (Ontario, Canada), Mai 2010.

Deslauriers, J., Larouche, A., Sarret, P., Grignon, S. Mechanisms underlying antipsychotics-induced dopamine D2 receptors up-regulation. 41<sup>e</sup> congrès annuel de *l'American Society for Neurochemistry*, Santa Fe (Nouveau-Mexique, Etats-Unis), Mars 2010.

Deslauriers, J., Lefrançois, M., Larouche, A., Sarret, P., Grignon, S. *In vitro* up-regulation of dopamine D2 receptors by haloperidol, but not amisulpride, and its prevention by lipoic

acid. 39<sup>e</sup> congrès annuel de la *Society for Neuroscience*, Chicago (Illinois, Etats-Unis), Octobre 2009.

- Communications orales :

Deslauriers, J. Prévention, par l'acide lipoïque, de la surrégulation du récepteur dopaminergique de type 2 induite par les antipsychotiques. 4<sup>e</sup> journée de la recherche du département de psychiatrie, Sherbrooke (Québec, Canada). Octobre 2009.

Deslauriers, J. Mécanismes impliqués dans la surexpression du récepteur dopaminergique de type D2 causée par le traitement antipsychotique. 3<sup>e</sup> journée de la recherche du département de psychiatrie, Sherbrooke (Québec, Canada). Octobre 2008.